



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

**PREVALÊNCIA DE VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA FELINA,
VÍRUS DA LEUCEMIA FELINA, CALICIVÍRUS FELINO, HERPESVÍRUS
FELINO TIPO 1 E *CANDIDA* SPP. EM FELINOS ERRANTES E POSSÍVEL
ASSOCIAÇÃO A GENGIVO-ESTOMATITE CRÓNICA FELINA E
A DOENÇA RESPIRATÓRIA FELINA**

CLÁUDIA VANESSA DE BARROS RODRIGUES

CONSTITUIÇÃO DO JURI

Doutora Ana Isabel Simões Pereira
Duarte

Doutora Berta Maria Fernandes Ferreira
São Braz

Doutora Esmeralda Sofia da Costa
Delgado

Dra. Ana Clotilde de Oliveira Teixeira
Alves Fernandes

ORIENTADOR

Dra. Ana Clotilde de Oliveira Teixeira
Alves Fernandes

CO-ORIENTADOR

Doutora Berta Maria Fernandes Ferreira
São Braz

2012

LISBOA



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

**PREVALÊNCIA DE VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA FELINA,
VÍRUS DA LEUCEMIA FELINA, CALICIVÍRUS FELINO, HERPESVÍRUS
FELINO TIPO 1 E *CANDIDA SPP.* EM FELINOS ERRANTES E POSSÍVEL
ASSOCIAÇÃO A GENGIVO-ESTOMATITE CRÓNICA FELINA E
A DOENÇA RESPIRATÓRIA FELINA**

CLÁUDIA VANESSA DE BARROS RODRIGUES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JURI

Doutora Ana Isabel Simões Pereira
Duarte

Doutora Berta Maria Fernandes Ferreira
São Braz

Doutora Esmeralda Sofia da Costa
Delgado

Dra. Ana Clotilde de Oliveira Teixeira
Alves Fernandes

ORIENTADOR

Dra. Ana Clotilde de Oliveira Teixeira
Alves Fernandes

CO-ORIENTADOR

Doutora Berta Maria Fernandes Ferreira
São Braz

2012

LISBOA

DECLARAÇÃO

Nome: Cláudia Vanessa de Barros Rodrigues

Endereço electrónico: claudiabrodrigues@gmail.com

Título: Dissertação

Prevalência de Vírus da Imunodeficiência Felina, Vírus da Leucemia Felina, Calicivírus Felino, herpesvírus Felino tipo 1 e Candida spp. em felinos errantes e possível associação a Gengivo-Estomatite Crónica Felina e a Doença Respiratória Felina

Orientador: Dra. Ana Clotilde de Oliveira Teixeira Alves Fernandes

Co-orientador: Doutora Berta Maria Fernandes Ferreira São Braz

Ano de conclusão: 2012

Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária

É autorizada a reprodução integral desta tese/trabalho apenas para efeitos de investigação, mediante declaração escrita do interessado, que a tal se compromete.

Faculdade de Medicina Veterinária da UTL, 16/01/2012

Assinatura:

AGRADECIMENTOS

À espectacular equipa do Hospital Veterinário SOSVet, pela receptividade, incentivo, partilha de conhecimentos e a amizade que permaneceu, e em particular à minha Orientadora de estágio curricular, Dra. Ana Clotilde Alves, e à Dra. Susana Batuca, pela ajuda na realização deste trabalho,

À Professora Doutora Berta São Braz, pelo excelente trabalho na Co-orientação desta dissertação, sempre com total disponibilidade e paciência,

À Professora Doutora Ana Duarte, por todo o apoio, paciência e incentivo, e pela preciosa ajuda no trabalho laboratorial,

À Isabel Lopes e à Ana Santos da AAAAMoita, e a todos os 50 “meninos” que, tão pacientemente, permitiram a realização deste trabalho, e aos quais desejo um final ainda mais feliz,

Ao Professor Doutor Telmo Nunes, pela ajuda no tratamento estatístico dos resultados obtidos neste trabalho,

À Virbac Portugal e ao Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal (CIISA) da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa (FMV-UTL), cujo apoio financeiro foi fulcral para a realização deste trabalho,

À Telma Martins, com quem tive o privilégio de desenvolver este trabalho,

Aos meus Amigos que, incansavelmente, me têm acompanhado ao longo da vida, ajudando-me a ultrapassar os obstáculos e celebrando comigo as vitórias,

A todos, deixo aqui o mais profundo e sincero Obrigada!

RESUMO

Prevalência de Vírus da Imunodeficiência Felina, Vírus da Leucemia Felina, Calicivírus Felino, Herpesvírus Felino Tipo 1 e *Candida* spp. em felinos errantes e possível associação a Gengivo-Estomatite Crônica Felina e a Doença Respiratória Felina.

Com o objectivo de conhecer alguns dos agentes infecciosos que afectam a população felina da Associação dos Amigos dos Animais Abandonados da Moita, e relacionar a sua eventual presença com as alterações clínicas apresentadas pelos animais em questão, nomeadamente a Gengivo-Estomatite Crônica Felina (GECF) e a Doença Respiratória Felina (DRF), foram avaliados neste estudo 50 felinos, incluídos aleatoriamente.

A cada animal, e após exame clínico, foram colhidas as amostras de material biológico apropriado para realização de hemograma, detecção de anticorpos contra o Vírus da Imunodeficiência Felina (FIV) e de antígeno do Vírus da Leucemia Felina (FeLV), detecção de ácido nucleico de Herpesvírus Felino tipo 1 (FHV-1) e Calicivírus Felino (FCV), e pesquisa de *Candida* spp. O FIV e FeLV foram detectados por imunocromatografia de membrana, o FHV-1 por PCR em tempo real, o FCV por RT-PCR convencional e as leveduras isoladas em *Sabouraud* dextrose agar foram posteriormente identificadas quanto ao género e espécie.

Constatou-se que, dos 50 animais, 22% eram positivos para FIV, 10% para FeLV, 62% para FHV-1 e 26% para FCV. Em relação às leveduras, foi detectada a presença de *C. silvicola* (n=3), *C. valida* (n=1) e *C. parapsilosis* (n=1). As associações estabelecidas entre a presença do vírus e determinada manifestação clínica que apresentaram significado estatístico foram: a presença de úlceras linguais em animais com FCV e co-infecção FCV / FIV; o desenvolvimento de estomatite nos animais infectados unicamente com FCV, FIV ou FeLV, e nas co-infecções FCV / FIV, FCV / FeLV, e FHV-1 / FeLV; a manifestação de gengivite de grau 2 ou 3 nos animais com FCV; e a ausência de úlceras linguais nos animais com infecção por FHV-1. O animal em que foi detectada a presença de *C. parapsilosis* apresentava gengivite ligeira, corrimento ocular e, a nível hematológico, leucocitose com linfocitose e monocitose. O animal infectado com *C. valida* exibia apenas estomatite ligeira e corrimento nasal, e os animais com *C. silvicola* revelaram gengivite ligeira, estomatite, úlceras linguais, corrimento ocular e nasal, e leucocitose com neutrofilia, linfocitose e monocitose. Nenhuma destas alterações revelou associação estatisticamente significativa com a presença da levedura.

Para uma correcta avaliação da prevalência destes agentes infecciosos em populações errantes felinas e sua associação a GECF e DRF, deverão ser realizados estudos mais extensos quanto ao número de animais envolvidos. Por outro lado, considerando a escassa informação sobre a microbiota micológica da cavidade oral dos felinos, a detecção de *Candida* spp. contribuiu para um melhor conhecimento nesta área, sendo que a sua influência na etiologia da GECF e da DRF, deverá também ser estudada com maior profundidade.

Palavras-chave: FIV; FeLV; FCV; FHV-1; *Candida* spp.; GECF; DRF.

ABSTRACT

Detection of Feline Immunodeficiency Virus, Feline Leukemia Virus, Feline Calicivirus, Feline Herpesvirus-1 and *Candida* spp. in stray cats and possible association with Feline Gingivostomatitis and Feline Respiratory Disease.

The aim of this study was to analyze the viral and mycological microbiota of cats' mouth and its relationship with the clinical symptoms, especially with Feline Gingivo-Stomatitis (FGS) and Feline Respiratory Disease (FRD), and infection with Feline Immunodeficiency Virus (FIV) and Feline Leukaemia Virus (FeLV), both able to induce immunodeficiency.

The test group included 50 cats from the Associação dos Amigos dos Animais Abandonados da Moita, that were subjected to clinical examination with collection of biological samples for serological detection of Feline Leukemia Virus (FeLV) antigen and Feline Immunodeficiency Virus (FIV) antibodies, detection of *Candida* spp. and viral nucleic acid of Feline Herpesvirus (FHV-1) and Feline Calicivirus (FCV). FIV and FeLV were detected by immunochromatography membrane, FHV-1 by real time PCR, FCV by RT-PCR, and the yeasts by mycological culture and then identified to genus and species. Within the 50 cats sampled, 22% (11/50) were FIV seropositive, 10% (5/50) FeLV, 62% (31/50) FHV-1 and 26% (13/50) FCV. Regarding the yeasts, *C. silvicola* (n=3), *C. valida* (n=1) and *C. parapsilosis* (n=1), were detected.

The associations between the agent detected and the clinical sign shown, that were statistically relevant were: the presence of tongue ulceration within FCV and FCV / FIV infected animals; the development of stomatitis in cats with FCV, FIV, FeLV, and FCV / FIV, FCV / FeLV, and FHV-1 / FeLV; moderate to severe gingivitis in FCV infected cats; and the absence of tongue ulceration in FHV-1 infected cats.

The cat with *C. parapsilosis* showed mild gingivitis, ocular discharge, and hematological findings were leucocytosis with lymphocytosis and monocytosis. Mild gingivitis and nasal discharge were presented by the *C. valida* infected animal, while the *C. silvicola* infected animals showed mild gingivitis, stomatitis, tongue ulceration, ocular discharge, nasal, discharge, and leucocytosis with neutrophilia, lymphocytosis and monocytosis. Because of the small size of the sample, none of the clinical findings were statistically associated with yeasts presence.

Once again, due to sampling issues, a more thorough analysis should be performed to correctly evaluate the true prevalence of these infectious agents in stray feline population. On the other hand, considering the lack of information regarding the mycological microbiota of feline oral cavity, the identification in our samples of yeasts included in the *Candida* genus, will certainly prove helpful. Furthermore, the role of *C. valida*, *C. parapsilosis* and *C. silvicola* in FGS and FRD should be deeply evaluated.

Key-words: FIV; FeLV; FCV; FHV-1; *Candida* spp.; FGS; FRD.

LISTA DE COMUNICAÇÕES CIENTÍFICAS

Os resultados que serviram de base a esta dissertação de mestrado são parte de um estudo mais alargado, em que a informação obtida foi submetida ao V Congresso da Sociedade Portuguesa de Ciências Veterinárias, que se realizou entre 13 a 15 de Outubro de 2011, IRNB – EZN, Vale de Santarém, Portugal.

- Rodrigues, C.B., Martins, T., Duarte, A., Alves, A.C., Braz, B.S., Tavares, L.. *Infecção viral e informação clínica em gatos errantes, Moita, Setúbal, Portugal*. Comunicação oral (anexo 1).

- Rodrigues C.B., Martins T., Martins M., Duarte A., Braz, B.S., Alves, A.C., Tavares L.. *Deteção de leveduras na cavidade oral de gatos errantes, Setúbal, Portugal*. Comunicação em painel (anexo 2).

- Martins, T., Rodrigues, C.B., Duarte, A., Alves, A.C., Braz, B.S., Tavares, L.. *Ehrlichia spp, Anaplasma spp., Rickettsia spp., Leishmania spp. e Mycoplasma haemofelis em gatos errantes, Moita, Setúbal, Portugal*. Comunicação oral (anexo 3).

ÍNDICE GERAL

Agradecimentos.....	i
Resumo	iii
Abstract	iv
Lista de Comunicações Científicas	v
Índice Geral	vi
Índice de Tabelas	xi
Índice de Figuras	xii
Índice de Gráficos.....	xiii
Lista de Abreviaturas	xiv
Capítulo I	1
1 Descrição das actividades realizadas durante o estágio curricular.....	1
2 Actividades realizadas após o estágio curricular, com vista à realização da presente dissertação de mestrado.....	2
3 Comunicação científica dos resultados obtidos no estudo experimental	2
Capítulo II - Revisão Bibliográfica	3
1 Introdução.....	3
2 Retrovírus	3
2.1 Vírus da Imunodeficiência Felina	4
2.1.1 Biologia do vírus.....	4
2.1.2 Epidemiologia.....	4
2.1.2.1 Distribuição e prevalências	4
2.1.2.2 Transmissão	5
2.1.2.3 Factores de risco	6
2.1.3 Patogenia da infecção	6
2.1.4 Sinais clínicos e fases de infecção	7
2.1.5 Diagnóstico	9
2.1.5.1 Detecção de antígeno	9
2.1.5.2 Detecção de anticorpo	10
2.1.5.3 Meios complementares de diagnóstico	11
2.1.6 Tratamento.....	12
2.1.6.1 Tratamento de suporte.....	12
2.1.6.2 Tratamento antiviral	13
2.1.7 Prevenção	15
2.1.7.1 Maneio geral	15
2.1.7.2 Vacinação.....	16
2.1.8 Prognóstico	17
2.2 Vírus da Leucemia Felina.....	18

2.2.1 Biologia do Vírus	18
2.2.2 Epidemiologia.....	18
2.2.2.1 Distribuição e Prevalências.....	18
2.2.2.2 Transmissão	18
2.2.2.3 Factores de Risco.....	19
2.2.3 Patogenia e Fases da infecção	19
2.2.4 Sinais clínicos	21
2.2.5 Diagnóstico	23
2.2.5.1 Detecção de Antigénio.....	23
2.2.5.2 Detecção de Anticorpo.....	25
2.2.6 Tratamento.....	25
2.2.6.1 Tratamento de suporte.....	25
2.2.6.2 Tratamento Antiviral.....	26
2.2.7 Prevenção.....	26
2.2.7.1 Maneio geral.....	26
2.2.7.2 Vacinação.....	27
2.2.8 Prognóstico	28
2.3 Quando testar para FIV e FeLV	28
3 Gengivo-Estomatite Crónica Felina.....	29
4 Doença Respiratória Felina.....	30
5 Calicivírus Felino	31
5.1 Biologia do vírus	31
5.2 Epidemiologia	31
5.2.1 Distribuição e prevalências.....	31
5.2.2 Transmissão	32
5.3 Patogenia da infecção.....	32
5.4 Sinais clínicos e fases de infecção.....	33
5.5 Diagnóstico	34
5.5.1 Detecção de antigénio.....	34
5.5.2 Detecção de anticorpo	35
5.5.3 Meios complementares de diagnóstico	35
5.6 Tratamento	35
5.6.1 Tratamento de Suporte	35
5.6.2 Tratamento Antiviral	36
5.7 Prevenção.....	37
5.7.1 Maneio geral	37
5.7.2 Vacinação	37
5.8 Prognóstico.....	38

6	Herpesvírus Felino tipo 1	39
6.1	Biologia do vírus.....	39
6.2	Epidemiologia	39
6.2.1	Distribuição e prevalências.....	39
6.2.2	Transmissão.....	39
6.2.3	Factores de risco.....	40
6.3	Patogenia da infecção.....	40
6.4	Sinais clínicos e fases de infecção	41
6.5	Diagnóstico	43
6.5.1	Detecção de antígeno.....	43
6.5.2	Detecção de anticorpo.....	44
6.5.3	Meios complementares de diagnóstico.....	44
6.6	Tratamento.....	44
6.6.1	Tratamento de suporte	44
6.6.2	Tratamento antiviral.....	45
6.7	Prevenção.....	47
6.7.1	Manejo geral	47
6.7.2	Vacinação	47
6.8	Prognóstico	48
7	<i>Candida</i> spp.....	48
7.1	Biologia	48
7.2	Epidemiologia	48
7.2.1	Distribuição e prevalências.....	48
7.2.2	Transmissão.....	49
7.3	Patogenia da infecção.....	49
7.4	Sinais clínicos	50
7.5	Diagnóstico	51
7.5.1	Detecção de antígeno.....	51
7.5.2	Detecção de anticorpo.....	51
7.5.3	Citologia	51
7.5.4	Cultura em meio selectivo	51
7.5.4.1	Aspecto macroscópico	52
7.5.4.2	Aspecto microscópico	52
7.5.5	Identificação	52
7.5.6	Meios complementares de diagnóstico.....	53
7.5.6.1	Hematologia.....	53
7.6	Tratamento.....	53
7.7	Prevenção.....	54

7.8 <i>Candida parapsilosis</i>	54
7.8.1 Epidemiologia.....	54
7.8.2 Sinais clínicos	55
7.8.3 Diagnóstico	55
7.9 <i>Candida silvicola</i>	55
7.10 <i>Candida valida</i>	56
Capítulo III - Estudo Experimental	57
1. Desenho experimental	57
1.1 Objectivos	57
1.2 Material e métodos.....	57
1.2.1 Amostra populacional em estudo	57
1.2.1.1 Critérios de inclusão e de exclusão	57
1.2.1.2 Caracterização da amostra populacional	58
1.2.2 Exame clínico e colheita de amostras	58
1.2.3 Processamento das amostras	59
1.2.4 Métodos de diagnóstico	59
1.2.5 Análise estatística	60
2 Resultados.....	61
3 Discussão dos resultados	71
3.1 Vírus da Imunodeficiência Felina	71
3.1.1 Prevalência na amostra.....	71
3.1.2 Associação com sinais clínicos associados à GECF	72
3.1.3 Associação com sinais clínicos associados à DRF	74
3.1.4 Associação com outros sinais clínicos associados à infecção por FIV	75
3.2 Vírus da Leucemia Felina	76
3.2.1 Prevalência na amostra.....	76
3.2.2 Associação com sinais clínicos associados à GECF	77
3.2.3 Associação com sinais clínicos associados à DRF	78
3.2.4 Associação com outros sinais clínicos associados à infecção por FeLV	79
3.3 Calicivírus Felino.....	80
3.3.1 Prevalência na amostra.....	80
3.3.2 Associação com sinais clínicos associados à GECF	81
3.3.3 Associação com sinais clínicos associados à DRF	84
3.3.4 Associação com outros sinais clínicos associados à infecção por FCV	86
3.4 Herpesvírus Felino tipo 1	86
3.4.1 Prevalência na amostra.....	86
3.4.2 Associação com sinais clínicos associados à GECF	88
3.4.3 Associação com sinais clínicos associados à DRF	89

3.4.4 Associação com outros sinais clínicos associados à infecção por FHV-1.....	91
3.5 <i>Candida</i> spp.....	92
3.5.1 Prevalência na amostra.....	92
3.5.2 Associação com sinais clínicos associados à GECF	92
3.5.3 Associação com sinais clínicos associados à DRF.....	93
3.5.4 Associação com outros sinais clínicos associados à infecção por <i>Candida</i> spp. ...	94
4 Considerações finais.....	95
Bibliografia.....	97
Anexos	125

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Distribuição mundial dos sete subtipos de FIV actualmente conhecidos.....	5
Tabela 2. Frequência absoluta e relativa do sexo e idade da amostra populacional em estudo.	58
Tabela 3. Frequência absoluta, prevalência aparente e prevalência real, para cada um dos agentes pesquisados, com intervalo de confiança de 95%.	61
Tabela 4. Associação entre os agentes pesquisados e os sinais clínicos associados à GECF, com respectivo nível de significância (p).....	67
Tabela 5. Associação entre os agentes pesquisados e os sinais clínicos associados à DRF, com respectivo nível de significância (p).....	69
Tabela 6. Frequências absolutas (FA) e relativas (FR) das consultas observadas em cada especialidade, distribuídas por espécie animal.	130
Tabela 7. Frequências absolutas (FA) e relativas (FR) de cirurgias assistidas, distribuídas por espécie animal.....	131
Tabela 8. Infecções e neoplasias reportadas em gatos com infecção natural por retrovírus..	133
Tabela 9. Plano de vacinação para FeLV, FCV e FHV-1	134
Tabela 10. Compostos análogos nucleósidos utilizados no tratamento de FHV-1, por ordem decrecente de eficácia	135
Tabela 11. Compostos utilizados no tratamento de infecções por <i>Candida</i> spp.....	136
Tabela 12. Classificação da gengivite, por graus	139

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama esquemático de um retrovírus	4
Figura 2. Representação gráfica das fases de infecção por FIV	9
Figura 3. Ptialismo/sialorreia em felino com GECF	30
Figura 4. Ulceração lingual e gengivite ligeira num felino sem infecção por retrovírus, FCV, FHV-1 e <i>Candida</i> spp.	30
Figura 5 e 6. Gatil da AAAAMoita	57
Figura 7. Leveduras coradas com azul de algodão.....	60
Figura 8. Exemplo de diagnóstico positivo a FIV, no teste rápido Speed® Duo FeLV/FIV	61
Figura 9. Fotografia de gel de agarose após corrida de PCR convencional para detecção de FCV.	62
Figura 10. Resultado de PCR em tempo real para detecção de FHV-1.	62
Figura 11. <i>C. silvicola</i> . Prova de filamentação com coloração azul de algodão.....	63
Figura 12. <i>C. parapsilosis</i> . Prova de filamentação com coloração azul de algodão	63
Figura 13. <i>C. valida</i> . Prova de filamentação com coloração azul de algodão.....	63
Figura 14. Ulceração lingual e estomatite moderada num felino infectado com FIV.....	73
Figura 15. Felino infectado com FIV e FeLV, sem alterações da cavidade oral.	74
Figura 16. Animal infectado com FIV e FeLV manifestando quemose exuberante e corrimento ocular purulento, em ambos os olhos	74
Figura 17. Estomatite grave e ulceração lingual num felino infectado com FeLV, FCV e FHV-1.....	78
Figura 18. Ulceração lingual de felino infectado com FCV e FIV.....	82
Figura 19 e 20. Felino infectado com FCV e FIV apresentando estomatite grave e gengivite de grau 3.	83
Figura 21. Ulceração lingual, gengivite de grau 2 e estomatite grave num felino infectado por FCV, FIV e FeLV.	83
Figura 22 e 23. Felino infectado com FCV e FHV-1 manifestando gengivite de grau 3 e estomatite proliferativa grave.....	84
Figura 24. Simbléfaro e corrimento ocular bilateral em felino diagnosticado com FCV e FIV...85	
Figura 27. Conjuntivite e corrimento ocular purulento bilateral em felino com infecção por FHV-1.....	89
Figura 25. Felino infectado com FHV-1, sem alterações da mucosa gengival.	89
Figura 26. Felino infectado com FHV-1, sem alterações na cavidade oral.....	89
Figura 28. Queratite grave com ulceração da córnea e conjuntivite purulenta bilateral, num animal infectado com FHV-1, FCV e FeLV.	90

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Número de animais positivos aos diferentes agentes pesquisados, distribuídos por classes de idade.....	64
Gráfico 2. Número de animais positivos aos diferentes agentes pesquisados, distribuídos segundo o sexo.	65
Gráfico 3. Número de animais negativos a todos os agentes, distribuídos por classes de idade.	65
Gráfico 4. Número de animais negativos a todos os agentes, segundo o sexo.....	66
Gráfico 5. Frequência relativa de consultas assistidas em cada especialidade.....	130
Gráfico 6. Frequência relativa de cirurgias assistidas em cada especialidade cirúrgica.	132

LISTA DE ABREVIATURAS

µg - micrograma
µm - micrometro
Ac - anticorpo
ADN - ácido desoxirribonucleico
Ag - antigénio
AIE's - Anti-Inflamatórios Esteróides
AINE's - Anti-Inflamatórios Não Esteróides
ARN - ácido ribonucleico
AZT - 3'-azido-2',3'-dideoxythymidine; azidotimidina; zidovudina
CID - coagulação intravascular disseminada
CIISA - Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal
DRF - Doença Respiratória Felina
ELISA - *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*
enFeLV - Vírus da Leucemia Felina Endógeno (*Endogenous Feline Leukemia Virus*)
EPO - eritropoietina
EUA - Estados Unidos da América
FCV - Calicivírus Felino (*Feline Calicivirus*)
FeLV - Vírus da Leucemia Felina (*Feline Leukaemia Virus*)
FeSV - Vírus do Sarcoma Felino (*Feline Sarcoma Virus*)
FHV-1 - Herpesvírus Felino tipo 1 (*Feline Herpesvirus type 1*)
FIV - Vírus da Imunodeficiência Felina (*Feline Immunodeficiency Virus*)
G-CSF - Factor De Estimulação De Granulócitos (*Granulocyte colony-stimulating factor*)
GECF - Gengivo-Estomatite Crónica Felina
GMS - metenamina de prata de *Gomori*
Gp - glicoproteína
HIV - Vírus da Imunodeficiência Humana (*Human Immunodeficiency Virus*)
IFN - interferão
Ig - imunoglobulina
IGF-1 - Factor de Crescimento Semelhante à Insulina-1 (*Insulin-like growth factor-1*)
IN - integrase
IRC - insuficiência renal crónica
IV - endovenoso
Kg- kilograma
mm - milimetro
MO - medula óssea
PAS - Ácido Periódico de *Schiff*

PCR - *Polymerase Chain Reaction*

PMEA - 9-(2-fosfonilmetoxietil)adenina

PMN - polimorfonucleares neutrófilos

PO- *per os*; por via oral

ppm - partes por milhão

rHuEPO - Recombinante Humano da Eritropoietina

rHuG-CSF - Recombinante Humano de Factor de Estimulação de Granulócitos

rHuIGF-1- Recombinante Humano de Factor de Crescimento Semelhante à Insulina-1

SC - subcutâneo

SNC - Sistema Nervoso Central

TR (RT) - transcriptase reversa (*Reverse Transcriptase*)

VS-FCV - Calicivírus Felino Sistémico Virulento (*Virulent Systemic Feline Calicivirus*)

CAPÍTULO I

1 DESCRIÇÃO DAS ACTIVIDADES REALIZADAS DURANTE O ESTÁGIO CURRICULAR

O estágio curricular decorreu no Hospital Veterinário Sosvet em Almada, com duração de seis meses (de 1 de Outubro de 2010 a 31 de Março de 2011), e obrigatoriedade de 40 horas semanais (de segunda-feira a sexta-feira) e 20 horas ao fim-de-semana (alternados com os restantes alunos estagiários).

O hospital tem serviço de atendimento permanente durante 24 horas, sendo o horário normal de consultas das 10h às 14h e das 15h30 às 21h, com excepção de domingos e feriados, em que as consultas de carácter não urgente decorrem entre as 11h e as 14h.

De todas as especialidades clínicas, a gastroenterologia, a dermatologia e a oncologia, foram as mais assistidas na consulta de medicina interna. Apesar de em menor prevalência, a aluna assistiu também a consultas de nefrologia, reprodução e obstetrícia, endocrinologia, ortopedia, oftalmologia, doenças infecto-contagiosas, cardiologia e neurologia. A medicina preventiva, da qual fazem parte as vacinações, desparasitações interna e externa, *check-up* e aplicação de microchip, é, contudo, a área com maior peso na casuística do hospital veterinário. O anexo 4 contém as frequências absolutas e relativas de consultas assistidas, segundo a especialidade.

O hospital disponibiliza ainda como métodos complementares de diagnóstico: hemograma, bioquímicas sanguíneas, ionograma, electrocardiograma, *holter*, medição de pressão arterial, urianálise, coprologia, citologia corada, esfregaço de sangue e de medula óssea e cultura de fungos, geralmente realizados pela aluna.

No que se refere à imagiologia, foi permitido à aluna o auxílio e/ou realização de radiografias, ecografias abdominais e cardíacas e endoscopias (esófago-gástrica, traqueal, rinoscopia e artroscopia). A aluna assistiu, auxiliou e realizou ainda procedimentos ecoguiados como cistocentese, abdominocentese, toracocentese, pericardiocentese e punção aspirativa de estruturas internas a nível abdominal e torácico.

Na área da cirurgia, coube à aluna o auxílio nas cirurgias, incluindo a preparação do animal (realização de tricotomia, lavagem e desinfecção da zona cirúrgica, pré-medicação, indução anestésica e intubação) e do material para cirurgia, a monitorização anestésica do animal, e ainda a realização de suturas de encerramento do plano muscular, tecido subcutâneo e pele. Os procedimentos cirúrgicos assistidos pela aluna, geralmente como ajudante de cirurgião, estão resumidos na tabela 7 (anexo 4), sendo que a aluna teve ainda a possibilidade de ser cirurgião principal em algumas ovariectomias (OVH) e orquiectomias electivas.

Para além da monitorização pós-cirúrgica, a área de internamento requer também o controlo de fluidoterapia por parte dos alunos estagiários, assim como o cumprimento da medicação

prescrita pelos médicos do hospital, alimentação, higiene, contenção, monitorização da temperatura, pressão arterial, frequências cardíacas e respiratórias, colocação de catéteres endovenosos e subcutâneos, colheita de sangue, transfusões sanguíneas, curvas de glicémia, pensos, enemas, algalias, lavagem vesical, oxigenoterapia, e outros eventuais procedimentos necessários à saúde e bem-estar animal.

A realização de eutanásia, por vezes seguida de necrópsia, por parte da aluna foi também consentida.

2 ACTIVIDADES REALIZADAS APÓS O ESTÁGIO CURRICULAR, COM VISTA À REALIZAÇÃO DA PRESENTE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Após o estágio curricular, a aluna integrou o Laboratório de Virologia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa, no sentido de proceder ao processamento das amostras recolhidas para a realização do estudo experimental que serve de base à presente dissertação de mestrado.

3 COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA DOS RESULTADOS OBTIDOS NO ESTUDO EXPERIMENTAL

Os resultados obtidos no presente estudo foram submetidos, para comunicação oral e poster, ao V Congresso da Sociedade Portuguesa de Ciências Veterinárias, que se realizou entre 13 e 15 de Outubro de 2011, IRNB – EZN, Vale de Santarém, Portugal.

CAPÍTULO II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1 INTRODUÇÃO

Das várias doenças descritas em felinos, surgem, na prática clínica, duas entidades com particular incidência e morbidade nesta espécie, a Gengivo-Estomatite Crónica Felina (GECF) e a Doença Respiratória Felina (DRF), cuja etiologia não está ainda completamente esclarecida.

A infecção por retrovírus como o Vírus da Imunodeficiência Felina (FIV) e Vírus da Leucemia Felina (FeLV) origina uma depressão do sistema imunitário do animal, o que poderá resultar num aumento da susceptibilidade à infecção por outros agentes e/ou na evolução de algumas doenças, nomeadamente a GECF e a DRF.

Desta forma, este trabalho pretende determinar a prevalência de agentes como FIV, FeLV, Calicivírus Felino (FCV), Herpesvírus Felino tipo 1 (FHV-1) e *Candida* spp., em ambiente de gatil, numa tentativa de avaliar o papel dos retrovírus como potenciais agentes imunossuppressores, na manifestação clínica da infecção pelos restantes agentes mencionados e, por outro lado, a eventual influência de FCV, FHV-1 e *Candida* spp. nas síndromes referidas.

Assim, far-se-á inicialmente uma introdução teórica ao tema, à qual se seguirá o desenvolvimento experimental com apresentação de material e métodos, resultados e respectiva discussão, e a conclusão final.

2 RETROVÍRUS

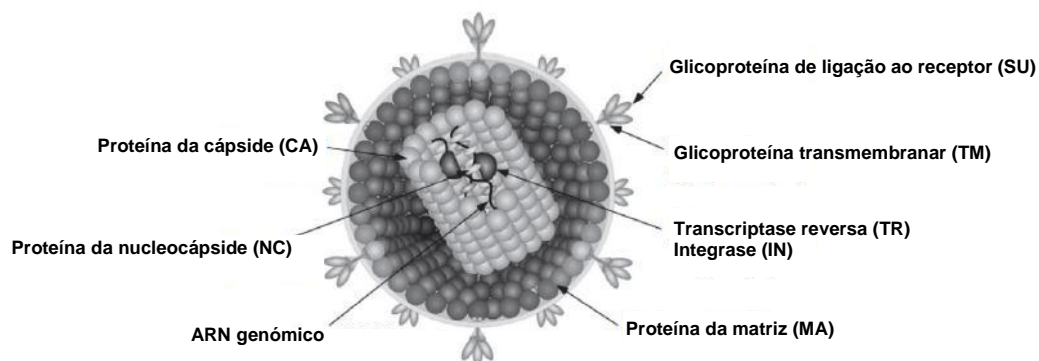
A família *Retroviridae*, cujo genoma é constituído por uma cadeia simples de ácido ribonucleico (ARN), divide-se em sete géneros: *Alpharetrovirus*, *Betaretrovirus*, *Gammaretrovirus*, *Deltaretrovirus*, *Epsilonretrovirus*, *Lentivirus* e *Spumavirus* (Pereira & Tavares, 2002; Lairmore, 2011). Todos os retrovírus possuem invólucro e utilizam a transcriptase reversa (TR) para sintetizar ácido desoxirribonucleico (ADN) (Pereira & Tavares, 2002; Dunham & Graham, 2008; Lairmore, 2011).

O facto de a transcrição reversa não ser totalmente eficaz, poderá dar origem a erros na sequência genómica da nova partícula viral em formação, o que se traduz numa elevada variação genética (Dunham & Graham, 2008). Por outro lado, a integração do vírus nas células do hospedeiro dá origem ao provírus, o que leva à persistência do genoma viral nas células infectadas (Dunham & Graham, 2008). Estas duas particularidades adaptativas são características dos retrovírus (Dunham & Graham, 2008).

A depressão imunitária causada pelos retrovírus permite a colonização secundária por agentes oportunistas (tabela 8, anexo 5), pelo que estes vírus têm elevada importância

clínica no âmbito da Medicina Veterinária, em particular no caso dos felinos de onde se destacam o Vírus da Imunodeficiência Felina (FIV) e o Vírus da Leucemia Felina (FeLV) (Dunham & Graham, 2008).

Figura 1. Diagrama esquemático de um retrovírus. Adaptado de Lairmore (2011).



2.1 Vírus da Imunodeficiência Felina

2.1.1 Biologia do vírus

O Vírus da Imunodeficiência Felina (FIV), do género *Lentivírus*, foi pela primeira vez isolado em 1986 em Petaluma, Califórnia (Pedersen, Yamamoto, Ishida & Hansen 1989; Grace, 2011a), tendo, no entanto, sido apenas documentado em 1987 (Bendinelli et al., 1995; Yamamoto, Pu, Sato & Hohdatsu, 2007). A sua designação vem do latim *lenti*, pela capacidade que estes vírus têm de originar doenças de evolução crónica, com longos períodos de incubação e virémia persistente (Pereira & Tavares, 2002).

A glicoproteína (gp) do invólucro, gp120, e a proteína transmembranar, gp41, codificadas pelo gene *env* (Olmsted, Hirsch, Purcell & Johnson, 1989; Pereira & Tavares, 2002), distinguem os diferentes subtipos de FIV (Sodora et al., 1994; Pecoraro et al., 1996; Kakinuma et al., 1995; Sellon & Hartmann, 2006).

2.1.2 Epidemiologia

2.1.2.1 Distribuição e prevalências

Actualmente são conhecidos sete subtipos de FIV (A – F, U). A sua distribuição a nível mundial encontra-se resumida na tabela abaixo apresentada (Kakinuma et al., 1995; Pecoraro et al., 1996; Weaver, Collisson, Slater & Zhu, 2004; Duarte & Tavares, 2006; Kann et al. 2006; Sellon, 2006; Hayward, Taylor & Rodrigo, 2007; Hosie et al., 2009; Grace, 2011a).

Tabela 1. Distribuição mundial dos sete subtipos de FIV actualmente conhecidos.

Subtipo de FIV	Distribuição
A	EUA (Oeste) Europa (Norte, em particular Alemanha, Suíça e Holanda) Reino Unido África do Sul Austrália
B	EUA (Este) Europa (Sul, especialmente Itália e Portugal) Japão (Este) Austrália (pouco frequente)
C	EUA Europa Japão (pouco frequente)
D	Japão
E	Argentina
F	EUA Canadá (pouco frequente)
U	Nova Zelândia

Estirpes específicas de felídeos não domésticos, nomeadamente puma, leão, leopardo e gato-de-pallas (Barr, Zou, Long, Hoose & Avery, 1997; Brown, Yuhki, Packer & O'Brien, 1994; Carpenter et al., 1996; Olmsted et al., 1992) foram já isoladas em África, na Ásia, nos EUA e na Europa (Pereira & Tavares, 2002). Em zonas endémicas de África, a prevalência de FIV pode atingir os 90% em populações de leões (Pereira & Tavares, 2002). Considerando os felinos domésticos saudáveis, estima-se que os EUA e alguns países da Europa Central sejam os locais com menor prevalência de FIV (cerca de 1%), e que o Japão e a Austrália apresentem mais de 30% da população felina infectada com este agente (Bendinelli et al., 1995).

2.1.2.2 Transmissão

O modo de transmissão natural de FIV mais frequente é a mordedura, supostamente por inoculação do próprio vírus ou de células infectadas com o vírus veiculadas na saliva de gatos com infecção activa (Grace, 2011a; Hosie et al., 2009). Praticamente todos os animais seropositivos contêm o vírus no sangue mas excretam uma maior quantidade do vírus na saliva (Yamamoto et al., 1989). A probabilidade de transmissão do vírus entre animais depende de factores como o subtipo do vírus e carga viral na saliva do animal portador (Hosie et al., 2009). Actualmente, há também evidências de que a transmissão pode ocorrer por contacto íntimo entre animais que vivam pacificamente durante longos períodos de tempo, o que contraria os pressupostos anteriores de que a transmissão por contacto casual

seria improvável (Dandekar et al., 1992; Grace, 2011a). Apesar de ser possível isolar o vírus no sêmen de machos infectados naturalmente ou de forma experimental (Jordan et al., 1998; Sellon & Hartmann, 2006), a transmissão venérea de FIV não tem sido descrita (Yamamoto, 1988, citado por Pedersen et al., 1989). Contudo, a inoculação experimental do vírus na vagina, recto, boca e nariz em animais saudáveis resultou em infecção activa (Moench et al., 1993), assim como a inoculação parentérica de sangue, plasma ou outros fluidos (Yamamoto et al., 1988). O aparelho reprodutor das fêmeas possui linfócitos T e B, macrófagos e células dendríticas, reconhecidos como células-alvo deste vírus (Sellon & Hartmann, 2006). Como tal, a transmissão vertical pode ocorrer mas nem todos os membros da ninhada se tornarão persistentemente infectados. A proporção de crias infectadas dependerá da carga viral da mãe durante a gravidez e parto, isto é, se a fêmea estiver numa fase activa da infecção, mais de 70% das crias ficarão infectadas, no entanto, se estiver clinicamente normal mas com infecção crónica subjacente, provavelmente nenhuma cria ficará infectada. (O'Neil, Burkhard, Diehl & Hoover, 1995; O'Neil, Burkhard & Hoover, 1996). Não obstante, fêmeas infectadas cronicamente poderão transmitir o vírus através do leite e do colostro em quantidade suficiente para induzir infecção activa em mais de 60% das suas crias (O'Neil et al. 1996). Já a transmissão pela saliva devido ao *grooming* materno parece ser pouco relevante (Lairmore, 2011).

Apesar de a sua estrutura, ciclo de vida e patogénese serem similares à do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) (Miller, Cairns, Bridges & Sarver, 2000; Sellon & Hartmann, 2006), o FIV não é uma zoonose (Bendinelli et al., 1995; Jordan et al., 1998; Hosie et al., 2009).

2.1.2.3 Factores de risco

O sexo e a idade do animal e a densidade populacional são considerados factores de risco na infecção por FIV (Yamamoto et al., 1989; Sukura et al., 1992; Bendinelli et al., 1995; Levy et al., 2006; Richards et al., 2006; Sellon & Hartmann, 2006; Gleich, Krieger & Hartmann, 2009; Little et al., 2009; Akhtardanesh, Ziaali, Sharifi & Rezaei, 2010; Grace, 2011a; Lairmore, 2011).

2.1.3 Patogenia da infecção

O vírus atinge células do sistema mononuclear como linfócitos, monócitos e macrófagos, em órgãos como medula óssea (MO), timo, pulmão, tubo digestivo, cérebro e rim (Bendinelli et al., 1995; Wise, Carter & Flores, 2005; Sellon & Hartmann, 2006). Contudo, os linfócitos T-helper (Th), ou CD4⁺, são o principal tipo de células infectadas pelo FIV numa fase inicial da infecção (Pereira & Tavares 2002; Wise et al., 2005; Hosie et al., 2009). Assim, nas primeiras semanas após infecção existe uma linfopénia (diminuição de CD4⁺) que precede uma resposta imune activa que é marcada pela produção de anticorpos (Ac's) anti-FIV,

diminuição da carga viral e um aumento persistente de linfócitos T-citotóxicos ou CD8⁺, com inversão do rácio CD4⁺:CD8⁺ (Dandekar et al., 1992; English, Johnson, Gebhard & Tompkins, 1993; Hosie et al., 2009).

A carga viral plasmática e de provírus nas células mononucleares atinge um primeiro pico entre as oito e as doze semanas após infecção (Hosie et al., 2009), voltando a aumentar na fase terminal da infecção (Wise et al., 2005).

Os Ac's específicos deste vírus, produzidos contra as proteínas estruturais do invólucro, cápside (nomeadamente a p24) e membrana, são detectáveis no sangue cerca de duas a seis semanas após infecção, dependendo, entre outros factores, da carga viral (Hosie & Jarrett, 1990; Fevereiro et al., 1991; Bendinelli et al., 1995; Sellon & Hartmann 2006; Hosie et al., 2009). Em gatos infectados experimentalmente os Ac's direccionados ao gene *env* apareceram mais cedo que os Ac's do gene *gag* (Rimmelzwaan et al. 1994). Os Ac's persistem durante toda a infecção à excepção da fase terminal, que rondará os dois a cinco anos após infecção, em que há exaustão do sistema imunitário do animal (Fevereiro, Roneker, Laufs, Tavares & de Noronha, 1991; Sellon & Hartmann, 2006; Lairmore, 2011). No entanto, quando a célula hospedeira integra o provírus mas não produz novas cópias virais, estamos perante uma infecção latente que pode ser quebrada com activação dessa mesma célula. Esta representa um reservatório não susceptível à acção dos Ac's neutralizantes, o que constitui um obstáculo à vacinação (Hosie et al., 2009). Desta forma, alguns animais poderão ter o provírus, sem contudo apresentar Ac's. Não obstante, há que ter em consideração que gatos expostos a baixas doses do vírus podem ter uma seroconversão tardia (Hosie et al., 2009). A eficácia dos Ac's maternos transmitidos por fêmeas infectadas ou vacinadas é ainda desconhecida (Hosie et al., 2009).

2.1.4 Sinais clínicos e fases de infecção

O período de incubação do vírus pode prolongar-se até vários anos após a infecção (Addie et al., 2000; Lairmore, 2011), e a maioria dos sinais clínicos demonstrados pelos animais infectados não está directamente relacionada com o vírus em si mas com causas subjacentes à infecção, nomeadamente, infecções por agentes oportunistas e neoplasias devido à imunodepressão que se instala ou, por outro lado, doenças imunomediadas resultantes da estimulação do sistema imunitário (Ishida, Washizu, Toriyabe, Motoyoshi, & Pedersen, 1989; Yamamoto et al., 1989; Richards, 2005; Hosie et al., 2009). A idade do animal no momento da infecção é também determinante para o tipo de sintomatologia demonstrada, assim como para a gravidade da mesma, sendo que quanto mais novo for o animal mais graves serão os seus sinais clínicos (George, Pedersen & Higgins, 1993; Podell, Hayes, Oglesbee & Mathes, 1997; Sellon & Hartmann 2006).

Com base nos sinais clínicos apresentados pelos animais, a infecção por FIV pode ser dividida em três fases principais: aguda, assintomática e terminal. Porém, nem todas estas

fases poderão ser observadas num animal infectado, e a evolução da doença depende fortemente da idade do animal aquando da infecção (George et al. 1993; Podell et al., 1997; Wise, Carter & Flores, 2005; Sellon & Hartmann, 2006).

Os sinais clínicos frequentemente observados na fase aguda da infecção podem durar de vários dias a semanas e são geralmente inespecíficos (hipertermia, depressão ou anorexia), pelo que, consoante o ambiente em que o animal se insere, poderão ou não passar despercebidos (Pedersen, Ho, Brown & Yamamoto, 1987; Pedersen et al., 1989; Bendinelli et al., 1995; del Fierro et al., 1995; Wise, Carter & Flores, 2005; Sellon & Hartmann, 2006; Grace, 2011a). Nesta fase, é também importante considerar outros diagnósticos diferenciais, como infecção por FeLV em fase aguda, linfossarcoma generalizado, lupus eritematoso sistémico e, embora menos comum, doença sistémica, por agente infeccioso ou não, com imunoestimulação (Pedersen et al., 1989).

A fase assintomática da infecção pode ocorrer durante anos ou mesmo por toda a vida do animal (Wise, Carter & Flores, 2005; Hosie et al., 2009). O seu início é marcado pela diminuição da carga viral plasmática de FIV, que se mantém depois estável, apesar da contínua depleção dos linfócitos CD4⁺ (Torten et al. 1991; Lairmore, 2011; Grace, 2011a).

A fase terminal da infecção, observada não antes dos quatro a seis anos de idade, caracteriza-se usualmente por perda de peso, diarreia persistente, gengivite e/ou estomatite por vezes com ulceração e/ou necrose, doença respiratória crónica, linfadenopatia e alterações cutâneas crónicas (Ishida et al., 1989; Yamamoto et al., 1989; Wise, Carter & Flores, 2005; Hosie et al., 2009).

Embora com menos frequência, poderão também ser observados episódios convulsivos, assim como alterações comportamentais resultantes de lesões inflamatórias no cérebro (principalmente o córtex cerebral e gânglios basais) decorrentes de infecções por determinadas estirpes de FIV (Grace, 2011a; Lairmore, 2011).

Também associadas a esta fase da infecção, poder-se-ão observar alterações renais ou inflamatórias, a nível ocular (Yamamoto et al., 1989; Poli et al., 1993; Sellon & Hartmann, 2006; Grace, 2011a; Lairmore, 2011).

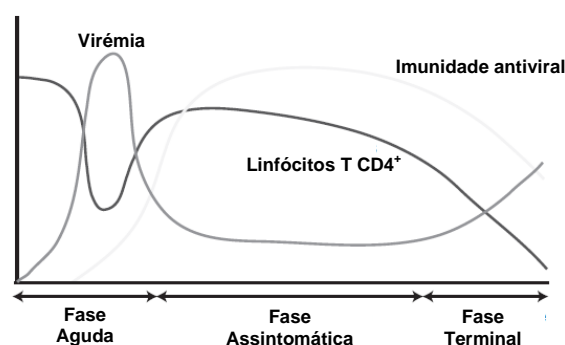
Os agentes oportunistas que desencadeiam infecções concomitantes com a infecção por FIV são tão variados como outros vírus, bactérias, fungos e parasitas (tabela 8, anexo 5). Num estudo experimental demonstrou-se que a imunossupressão por infecção crónica por FIV aumentou a taxa de replicação de coronavírus entérico, podendo resultar em mutação para a forma virulenta deste agente, responsável pela Peritonite Infecciosa Felina (Grace, 2011a).

Será também esperada uma maior incidência de linfomas não associados a FeLV, sobretudo do tipo B, alterações mieloproliferativas como leucemia, e desenvolvimento de carcinoma de células escamosas em animais infectados (Yamamoto et al., 1989; Hutson,

Rideout & Pedersen, 1991; Callanan et al. 1996; Sellon & Hartmann, 2006; Lairmore, 2011; Grace, 2011a).

A nível reprodutor, poderá haver incapacidade de conceber a gestação, ou caso esta seja viável, desenvolverem-se nados-mortos, fetos sub-desenvolvidos ou crias com peso abaixo do normal ou com deficiência em linfócitos T (O'Neil et al., 1995; Weaver et al., 2005).

Figura 2. Representação gráfica das fases de infecção por FIV. Na fase aguda, que pode durar meses, há um pico inicial de virémia e diminuição de linfócitos CD4⁺. Com a produção de Ac's anti-FIV, a carga viral plasmática diminui e aumenta a contagem linfocitária. A carga viral plasmática permanece baixa durante a fase assintomática, mas os linfócitos CD4⁺ poderão diminuir novamente. Na fase terminal da infecção, por exaustão do sistema imunitário, há aumento da carga viral plasmática e infecções secundárias por agentes oportunistas. Adaptado de Dunham & Graham (2008).



2.1.5 Diagnóstico

O diagnóstico de FIV pode ser feito através da detecção de antígeno e/ou anticorpo.

2.1.5.1 Detecção de antígeno

Este método é utilizado sobretudo para confirmação de resultados positivos, em que podem ser utilizadas técnicas como *Polymerase Chain Reaction* (PCR) ou isolamento viral.

O PCR permite a detecção do provírus, contudo a sua especificidade e sensibilidade têm sido descritas como altamente variáveis, desde 40% a 100% (Bienzle et al., 2004; Crawford, Slater & Levy, 2005; Sellon & Hartmann, 2006; Lairmore, 2011). É particularmente útil nos casos em que o animal possui o provírus mas não produz Ac's anti-FIV (Sellon & Hartmann, 2006). Os métodos de PCR actualmente disponíveis detectam sem dificuldade o subtipo A mas a capacidade de identificar os restantes subtipos é bastante variável (Hosie et al., 2009). Um resultado positivo de PCR com serologia negativa poderá ocorrer no caso de animais que vivam em contacto íntimo com animais infectados e possuam o provírus sem, no entanto, produzirem doença ou níveis de Ac's detectáveis (Dandekar et al., 1992). Estes

animais são considerados infectados mas a sua maioria sofre uma seroconversão em semanas ou meses (Hosie et al., 2009). A ocorrência de falsos negativos poderá estar relacionada com número insuficiente de células infectadas na amostra ou a presença de um provírus defeituoso a nível intracelular (Bendinelli et al., 1995; Dunham & Graham, 2008; Grace, 2011a).

O isolamento viral é realizado em cultura de linfócitos T de sangue periférico do animal suspeito e células T primárias durante duas a três semanas. A presença do vírus é confirmada por medição dos níveis de proteínas virais nos fluidos da cultura (Hosie et al., 2009). Apesar de altamente fiável e de poder ser utilizado em qualquer fase da infecção, este é um processo moroso, dispendioso e que requer conhecimentos específicos, daí que não seja usado por rotina (Sellon & Hartmann, 2006; Lairmore, 2011).

2.1.5.2 Detecção de anticorpo

O diagnóstico é, na maioria das vezes, realizado por detecção de Ac's uma vez que na maior parte dos casos o nível de antigénios (Ag's) se mantém abaixo do limiar de detecção (Richards, 2005). São raros os casos reportados em que a serologia é positiva apenas a partir dos seis meses após a infecção (Hosie et al., 2009). A desvantagem dos métodos disponíveis é que nenhum consegue distinguir os Ac's vacinais dos Ac's maternos ou os induzidos por infecção natural (Richards, 2005; Sellon & Hartmann, 2006; Levy et al., 2008b; Hosie et al., 2009; Grace, 2011a), pelo que crias que revelem presença de Ac's anti-FIV deverão ser testadas novamente às dezasseis semanas, para excluir a possibilidade de se tratarem de Ac's maternos em vez de Ac's induzidos por infecção natural. Em alguns casos os Ac's maternos poderão persistir até aos seis meses de idade, pelo que animais seropositivos às dezasseis semanas deverão ser re-testados dois meses depois. Para confirmação poder-se-á recorrer ao *Western Blot* ou ao PCR (Sellon & Hartmann, 2006; Levy et al., 2008b). Um PCR negativo indica, com 80% de segurança, que o animal não está infectado (Hosie et al., 2009; Grace, 2011a).

A vacinação contra FIV com recurso a vacinas inactivadas resulta numa produção rápida de Ac's anti-FIV, que poderão persistir por mais de três anos (Lairmore, 2011). No Japão encontra-se já disponível um novo tipo de teste serológico discriminatório, baseado em *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA), capaz de distinguir os Ac's vacinais de verdadeira infecção por FIV (Levy et al., 2008a; Grace, 2011a). A vacina para o FIV está apenas legalizada nos EUA, pelo que não deverá ser utilizada noutros países, de modo a evitar o aparecimento de Ac's vacinais na amostra populacional felina desses países. Contudo, é importante lembrar que animais vacinados nos EUA poderão ser exportados para outros países.

Um outro factor a ter em atenção é que um animal sujeito a transfusão sanguínea com sangue proveniente de um animal vacinado para FIV, irá ter serologia positiva durante semanas ou meses (Grace, 2011a).

A ocorrência de falsos negativos poderá ser associada à fase terminal da infecção, em que os níveis de Ac's não são detectáveis (Lairmore, 2011).

Para a detecção de Ac's poder-se-á recorrer à imunocromatografia de membrana, ao *Western Blot* ou à imunofluorescência indirecta.

A imunocromatografia de membrana é baseada na técnica de ELISA, sendo que estes testes estão disponíveis há vários anos para o uso imediato por parte dos médicos veterinários. O facto de o FIV partilhar alguns epítomos com outros agentes infecciosos poderá resultar em reacções cruzadas (falsos positivos).

O *Western Blot* é considerado o *gold standard* dos testes serológicos para detecção de Ac's anti-FIV (Dunham & Graham, 2008). A utilização de sangue total em vez de soro, assim como uma má técnica de execução do teste poderá originar resultados falsos positivos (Sellon & Hartmann, 2006).

A imunofluorescência indirecta é um meio de diagnóstico simples, rápido e barato (Lennette, Karparkin & Levy, 1987; Mahony et al., 1989) mas que exige experiência pois a sua interpretação é subjectiva (Gallo et al., 1986). É menos específico que o ELISA pelo que deverá ser utilizado apenas a título de rastreio serológico (Bendinelli et al., 1995).

Independentemente da sensibilidade e especificidade do teste de diagnóstico utilizado, uma interpretação correcta do resultado obtido deverá ser sempre baseada na prevalência do vírus na amostra populacional onde o animal se insere. Assim, quando a prevalência de FIV é baixa e se obtém um diagnóstico positivo, existe uma probabilidade de mais de 50% de o animal não estar efectivamente infectado, pelo que este resultado deverá ser sempre confirmado, sobretudo se o animal não apresentar qualquer sintoma da infecção. Pelo contrário, um resultado negativo em populações com baixa prevalência de FIV é sempre mais fiável, mesmo quando a especificidade do teste não é elevada (Jacobson, 1991; Dunham & Graham, 2008).

2.1.5.3 Meios complementares de diagnóstico

A nível hematológico as alterações são, apesar de inespecíficas, bastante frequentes na infecção por FIV. A diminuição dos linfócitos T CD4⁺, durante as fases aguda e terminal, irá reflectir-se ao nível do leucograma em leucopénia por neutropénia e linfocitopénia (Shelton & Linenberger, 1995; Grace, 2011a). Ocasionalmente foi já descrita a ocorrência de neutrofilia e trombocitopénia (Shelton & Linenberger, 1995). A anemia não-regenerativa, característica de doenças crónicas e mieloproliferativas, e situações de hipoplasia e

displasia medular, poderá também ser detectada nos animais infectados (Pedersen et al., 1989; Shelton & Linenberger, 1995; Grace, 2011a).

A contagem de linfócitos CD4⁺ e CD8⁺ fornece informação acerca do estadio da infecção, mas, para além de ser um processo complexo, o facto de não haver valores de referência para a espécie, faz com que não seja utilizado por rotina (Hosie et al., 2009).

No perfil bioquímico é comum haver hipergamaglobulinémia devido a resposta imunitária que se instala, assim como azotémia por dano renal (Akhtardanesh et al., 2010; Grace, 2011a).

2.1.6 Tratamento

A debilidade imunitária causada pelo FIV requer, obviamente, um tratamento ponderado e em várias vertentes, o que poderá, por vezes, não ser possível por questões económicas, práticas ou até mesmo logísticas. A maioria dos animais com FIV responde aos tratamentos tão bem quanto animais não infectados, podendo em alguns casos ser apenas necessário uma terapia mais agressiva e/ou prolongada (Hosie et al., 2009).

2.1.6.1 Tratamento de suporte

Face às habituais infecções por agentes oportunistas, muitos dos animais infectados requerem um tratamento de suporte, direccionado sobretudo à sintomatologia apresentada, o que é, muitas das vezes, razoavelmente satisfatório em termos de qualidade de vida e bem-estar.

A administração de antibióticos poderá ser necessária nos casos de infecções secundárias (Wise, Carter & Flores, 2005; Hosie et al., 2009). Os anti-inflamatórios não esteróides (AINE's) poderão ser benéficos, mas a utilização de anti-inflamatórios esteróides (AIE's) ou outros fármacos imunossupressores, em animais com estomatite crónica, por exemplo, é ainda bastante controversa (Sellon & Hartmann, 2006; Hosie et al., 2009; Addie, 2010). Addie (2010) recomenda a utilização de meloxicam, em detrimento do AIE's que suprimem tanto a resposta imunitária celular como a humoral, e logo a capacidade do animal debelar a infecção. Por outro lado, a extracção completa de todos os dentes parece ser de consenso geral na melhoria deste sinal clínico (Sellon & Hartmann, 2006; Addie, 2010).

As infecções fúngicas sistémicas deverão ser tratadas da mesma forma que em animais não infectados com FIV, sendo que o itraconazol é uma opção terapêutica para os casos de infecção por criptococos ou dermatófitos (Sellon & Hartmann, 2006). A griseofulvina demonstrou provocar supressão da MO com neutropénia grave em animais infectados (Sellon & Hartmann, 2006; Hosie et al., 2009).

A eritropoietina (EPO), disponível comercialmente na forma de recombinante humano (rHuEPO), provou ser eficaz em casos de anemia não-regenerativa por insuficiência renal crónica (IRC) com deficiência em EPO (Hosie et al., 2009). Os animais tratados com

rHuEPO revelaram aumento gradual na contagem celular de eritrócitos e linfócitos, sem aumento da carga viral, o que refuta a ideia de que a estimulação da produção de linfócitos implica um aumento na replicação de FIV (Arai, Darman, Lewis & Yamamoto, 2000). Os estudos de Cowgill et al. (1998) e Arai et al. (2000) revelaram que a utilização de rHuEPO em gatos poderá resultar em efeitos adversos como convulsões, hipertensão sistêmica, deficiência em ferro, vômitos, anemia e produção de Ac's anti-rHuEPO.

O factor de estimulação de granulócitos (G-CSF), é uma citocina utilizada em medicina veterinária na forma de recombinante humano (rHuG-CSF), no tratamento da neutropénia resultante da infecção por FIV, à qual foi associada o aumento da produção viral tanto *in vitro* como *in vivo* (Arai et al., 2000; Sellon & Hartmann, 2006). Deste modo, deverá ser ponderado o uso concomitante de antivirais efectivos para o FIV aquando da utilização deste composto (Arai et al., 2000).

O factor de crescimento semelhante à insulina-1 (IGF-1), apenas disponível na forma de recombinante humano (rHuIGF-1), produz, entre outros efeitos, um crescimento de células a nível do timo e estimula a função de linfócitos T CD4⁺ (Woo, Dean, Lavoy, Clark & Moore, 1999), não havendo, contudo, evidências suficientes do seu papel em infecções naturais que levem à integração desta substância no tratamento de suporte em infecções por FIV (Hosie et al., 2009).

A capacidade de estimulação do sistema imunitário de animais infectados foi constatada aquando da administração de superóxido dismutase (Grace, 2011a), sendo que o acemannan (polissacárido derivado de Aloé Vera), a proteína A de *Staphylococcus* e o *Propionibacterium acnes*, estão também incluídos na categoria de estimuladores do sistema imunitário (Sellon & Hartmann, 2006).

2.1.6.2 Tratamento antiviral

Até ao momento ainda nenhum tratamento demonstrou ser eficaz na reversão total da infecção por retrovírus (Levy et al., 2008b; Grace, 2011a). No entanto, algumas substâncias com actividade anti-retroviral confirmada contra FIV não são utilizadas na prática clínica, devido à sua toxicidade e ao modo de administração (injecções diárias). Assim, a maioria das substâncias utilizadas na terapêutica, específicas para a infecção por HIV, não está autorizada para uso veterinário (Hosie et al., 2009).

O AZT (azidotimidina), também conhecido como zidovudina, é um análogo nucleosídeo que bloqueia a TR dos retrovírus. Tem a capacidade de integrar a cadeia de ADN em formação, o que, apesar de não interromper a replicação viral, impede a infecção de novas células por parte do vírus (Sellon & Hartmann, 2006). O AZT conduz a uma diminuição da carga viral e a um aumento do rácio CD4⁺/CD8⁺. Verifica-se uma melhoria do estado clínico e do sistema imunitário do animal, levando ao aumento da qualidade de vida (Hartmann et al., 1992; Sellon & Hartmann, 2006; Hosie et al., 2009). A nível experimental, foi demonstrada uma

melhoria clínica no que diz respeito à estomatite (Sellon & Hartmann, 2006; Hosie et al., 2009). O efeito adverso mais comum é o aparecimento de anemia não-regenerativa, pelo que durante o primeiro mês de administração deverá ser realizado semanalmente um hemograma de controlo (Sellon & Hartmann, 2006; Hosie et al., 2009). Caso os valores se mantenham estáveis nesse mês de tratamento, então um hemograma mensal será suficiente. Se o valor do hematócrito descer abaixo dos 20% é recomendada a descontinuação do tratamento, para que os valores normalizem, o que geralmente acontece em poucos dias (Hosie et al., 2009). Os animais que revelem supressão medular *a priori*, não deverão ser submetidos a este tratamento (Sellon & Hartmann, 2006; Hosie et al., 2009). Já nos animais com diminuição da função renal deverá ser reduzida a dose para evitar acumulação da substância (Sellon & Hartmann, 2006). Durante a terapêutica poderão também ser observados sintomas neurológicos (Sellon & Hartmann, 2006). Tal como na infecção por HIV, poderão surgir mutações no genoma do FIV que o tornem resistentes ao AZT em apenas seis meses de tratamento (Sellon & Hartmann, 2006; Hosie et al., 2009). Num estudo de Arai, Earl & Yamamoto (2002) o AZT demonstrou ser mais vantajoso em termos profiláticos do que no tratamento de animais com infecção crónica por FIV.

O 9-(-2-fosfonil-metoxietil)adenina (PMEA), parece ter um maior efeito na regressão da estomatite, no aumento do rácio $CD4^+ : CD8^+$ e na melhoria do estado clínico, comparativamente ao AZT. Porém, os efeitos secundários do foro hematológico foram mais severos nos animais tratados com PMEA relativamente aos que receberam AZT, o que impede a utilização da substância na dose referida em tratamentos prolongados (Egberink et al., 1990; Hartmann et al., 1992).

A estimulação inespecífica do sistema imunitário com utilização de imunomoduladores ou indutores da produção de interferão (IFN) poderá estar contra-indicada, uma vez que levará a um aumento da replicação viral por activação de macrófagos e linfócitos infectados em estado latente (Hosie et al., 2009). Assim, a utilização de imunomoduladores inespecíficos e sem efeitos secundários controlados, deverá ser evitada (Sellon & Hartmann, 2006; Hosie et al., 2009).

O Interferão- ω Felino, recentemente licenciado para uso veterinário na União Europeia e no Japão (Hosie et al., 2009), é específico da espécie pelo que o uso prolongado desta substância não induz produção de Ac's, não havendo, até ao momento, descrição de efeitos adversos em felinos (Hosie et al., 2009).

Um ensaio clínico com utilização de Interferão- α Humano em gatos demonstrou um aumento da sobrevivência dos linfócitos T $CD4^+$ (Pedretti et al., 2006). Foi descrito o aparecimento de Ac's neutralizantes entre as três e as sete semanas após início do tratamento (Zeidner et al. 1990). A administração parentérica de IFN- α parece conduzir a um maior efeito anti-viral que a administração por via oral, talvez devido à menor absorção do IFN a nível gastrointestinal,

o que não elimina a possibilidade de estimulação local do tecido linfóide da cavidade oral (Sellon & Hartmann, 2006).

Outros compostos como os derivados de fluoroquinolonas, ciclosporina-A, esteróides androgénicos, N-acetilcisteína, ácido ascórbico, péptidos derivados do gene *env* e de regiões transmembranares de FIV, extractos de algas, foram já investigados com resultados promissores tanto *in vitro* como *in vivo*, mas até ao momento não há ainda evidência clínica da sua utilidade nesta infecção (Sellon & Hartmann, 2006).

Os inibidores da protease são específicos para retrovírus e têm sido usados com sucesso no tratamento de HIV. No âmbito da medicina veterinária foi desenvolvida uma substância a nível experimental denominada TL-3, capaz de prevenir a infecção por FIV e reduzir a sintomatologia neurológica (Sellon & Hartmann, 2006). Em animais com sintomatologia evidente como estomatite ou envolvimento neurológico, sugere-se o recurso ao AZT quando os inibidores da protease não estão disponíveis (Sellon & Hartmann, 2006).

2.1.7 Prevenção

Existem algumas medidas que poderão ser adoptadas no sentido de prevenir, não só a disseminação de FIV, mas também a infecção dos animais infectados por este agente, com outros potencialmente patogénicos.

2.1.7.1 Maneio geral

Considerando a depressão imunitária provocada pelo vírus, é fulcral que os animais seropositivos sejam isolados, por um lado, de modo a evitar a infecção por agentes oportunistas e subsequente manifestação clínica, mas também a progressão da infecção por FIV. O isolamento do animal em casa permitirá ainda evitar a potencial transmissão do FIV a outros animais (Richards et al., 2006; Sellon & Hartmann, 2006; Hosie et al., 2009; Levy et al., 2008b). Quando em ambiente hospitalar, os animais seropositivos nunca deverão ser internados na unidade de doenças infecto-contagiosas, dada a sua susceptibilidade, mas sim no internamento geral em jaula individual (Hosie et al., 2009; Levy et al., 2008b).

Os dadores de sangue deverão ser testados previamente (Levy et al., 2008b), e todos os objectos potencialmente contaminados com sangue ou saliva (instrumentos cirúrgicos, material de administração de medicação, comedouros/bebedouros, etc.) de um animal infectado, deverão ser esterilizados (Levy et al., 2008b).

Em ambientes com hierarquias bem estabelecidas o risco de transmissão é baixo, dada à menor prevalência de conflitos entre animais co-habitantes (Hosie et al., 2009). De modo a evitar qualquer tipo de disputas, a entrada de novos elementos na população deve ser evitada e aconselha-se a esterilização destes animais (apenas se o seu estado hígido o permitir), pois apesar de a transmissão vertical não ser um meio comum de infecção natural, a castração precoce de felinos machos com acesso ao exterior poderá fazer com que estes

permaneçam mais perto de casa e não desenvolvam interesse em domínio territorial (Sellon & Hartmann, 2006; Hosie et al., 2009; Levy et al., 2008b). Quanto às fêmeas, a esterilização permite evitar situações de stress devidas ao estro, gravidez e lactação, e também a transmissão do vírus às suas crias (Levy et al., 2008b; Grace, 2011a).

Os animais portadores de FIV deverão ser examinados pelo seu médico veterinário a cada quatro a seis meses (Sellon & Hartmann, 2006; Hosie et al., 2009; Levy et al., 2008b; Grace, 2011a). Deverão ser realizados exames hematológicos, bioquímicos, urinários e fecais, no mínimo uma vez por ano (Sellon & Hartmann, 2006; Hosie et al., 2009; Levy et al., 2008b). O peso do animal deverá ser monitorizado (é muitas vezes o primeiro sinal de deterioração do estado de saúde) e especial atenção deverá ser dada à cavidade oral, olhos e linfonodos (Hosie et al., 2009; Levy et al., 2008b; Grace, 2011a).

As desparasitações interna e externa deverão ser realizadas periodicamente, de acordo com os esquemas preconizados (Levy et al., 2008b).

Nos animais assintomáticos a cirurgia é, de um modo geral, bem tolerada mas deve ser acompanhada da administração de antibióticos, assim como nos procedimentos dentários (Hosie et al., 2009; Levy et al., 2008b).

Ao animal deverá ser fornecida uma dieta nutricionalmente equilibrada, sem comida crua nem leite ou ovos não pasteurizados, para eliminar o risco de infecção com bactérias ou parasitas veiculados nesses alimentos (Levy et al., 2008b; Grace, 2011a).

Uma vez que se trata de um vírus com invólucro, o FIV pode ser inativado com alguma facilidade com solventes lipídicos, detergentes ou a 60°C durante alguns minutos (Bendinelli et al., 1995; Sellon & Hartmann, 2006; Lairmore, 2011). Por se tratar de um dímero, o seu genoma consegue sofrer mutações durante a transcrição reversa, quando submetido a radiação ultra-violeta ou X (Levy et al., 2008b; Lairmore, 2011).

2.1.7.2 Vacinação

O protocolo de vacinação deverá ser adaptado ao estilo de vida e ao ambiente em que se insere o animal (Levy et al., 2008b). A maioria dos animais, pelo menos numa fase inicial de infecção por retrovírus, mantém a sua capacidade de estabelecer uma resposta imune eficiente aquando da vacinação, pelo que não é necessário alterar o intervalo entre doses (Richards et al., 2006; Hosie et al., 2009). É recomendada a utilização de vacinas inactivadas em detrimento de vacinas vivas atenuadas, devido ao potencial risco de estas últimas adquirirem de novo o seu poder patogénico (Sellon & Hartmann, 2006; Hosie et al., 2009; Levy et al., 2008b). As vacinas consideradas essenciais (que protegem contra Calicivírus Felino, Herpesvírus Felino tipo-1 e Parvovírus Felino) deverão ser administradas a animais seropositivos, enquanto que as vacinas facultativas deverão ser ponderadas individualmente para cada animal (Richards et al., 2006). Os argumentos contra qualquer tipo de vacinação passam pela defesa de que a estimulação imunitária provocada pela

vacina irá alterar o equilíbrio estabelecido entre o lentivírus e o sistema imunitário (Hosie et al., 2009).

Até ao momento não existe nenhuma vacina para o FIV disponível na Europa. Uma vacina inactivada com adjuvante (Fel-O-Vax FIV[®], Fort Dodge Animal Health, Pfizer), foi lançada em 2002 nos EUA, em 2003 no Canadá e em 2004 na Austrália e Nova Zelândia (Richards et al., 2006; Hosie et al., 2009). Esta vacina protege contra os subtipos A e D e parece haver protecção cruzada com o subtipo B (Kusuhara et al., 2005; Grace, 2011a), mas, uma vez que não foi ainda provado que esta vacina conceda protecção contra os isolados virais europeus, a sua utilização não está licenciada para uso na Europa (Hosie et al., 2009).

Esta vacina é considerada facultativa, pelo que deverá ser apenas administrada a animais com alto risco de infecção, isto é, com acesso ao exterior ou que co-habitem com animais infectados (Richards et al., 2006; Lairmore, 2011). Pode ser administrada a animais a partir das oito semanas de idade, e a primovacinação é constituída por três doses, administradas por via subcutânea, com duas a três semanas de intervalo, e os reforços posteriores deverão ser anuais (Richards et al., 2006; Levy et al., 2008b; Grace, 2011a). Os Ac's vacinais persistem pelo menos um ano após vacinação (Levy, Crawford & Slater, 2004), e uma vez que não são, até ao momento, passíveis de distinção face aos Ac's resultantes de infecção natural, é recomendado que animais vacinados sejam diferenciados dos restantes através da aplicação de um micro-chip ou tatuagem, por exemplo, que permita identificar o seu estado vacinal (Richards, 2005; Levy et al., 2008b). Esta medida poderá evitar que animais submetidos a detecção de Ac's anti-FIV não sejam, por exemplo, indevidamente eutanasiados (Richards et al., 2006; Levy et al., 2008b; Grace, 2011a).

2.1.8 Prognóstico

Um teste com resultado positivo de infecção por FIV nunca deverá, *per si*, ser motivo de eutanásia e havendo até evidência de que animais infectados poderão viver tanto tempo como animais sem FIV (Addie et al. 2000; Hosie et al., 2009). Não obstante, é necessário ter consciência que animais seropositivos têm maior probabilidade de contrair infecções secundárias, neoplasias e doenças imunomediadas, e de apresentarem manifestações clínicas dessas mesmas afecções de um modo mais exuberante (Hosie et al., 2009).

A maioria dos animais permanece assintomática por quatro a seis anos após infecção, mas cerca de 20% acabam por sucumbir durante esse tempo (Grace, 2011a), sendo que o tempo médio de sobrevivência após o diagnóstico é de cinco anos (Levy et al., 2008b).

2.2 Vírus da Leucemia Felina

2.2.1 Biologia do Vírus

O Vírus da Leucemia Felina (FeLV) foi descoberto em 1964 numa população de felinos com linfoma (Hardy et al., 1976; Vobis, D'haese, Mehlhorn & Mencke, 2003; Hartmann, 2006; Dunham & Graham, 2008). É um gammaretrovírus com capacidade de infectar tanto os felinos domésticos como o seu homólogo silvestre *Felis silvestris*, assim como o Lince Ibérico e o Europeu (Lutz et al., 2009; Hartmann, 2006; Costa & Norsworthy, 2011).

Estão identificados os subtipos A, B, C e T que estão antigenicamente relacionados e são distinguidos pelas diferenças existentes na sequência do gene *env* e pelas suas células-alvo (Hardy et al., 1976; Hartmann, 2006; Dunham & Graham, 2008; Lutz et al., 2009; Costa & Norsworthy, 2011). O subtipo A é ubiquitário, sendo o único subtipo infeccioso e transmissível entre felinos (Hartmann, 2006; Dunham & Graham, 2008; Lutz et al., 2009; Costa & Norsworthy, 2011). A recombinação entre o subtipo FeLV-A e o Vírus da Leucemia Felina Endógeno (enFeLV) deram origem ao subtipo B, enquanto que o subtipo C (raro) é resultante de mutações ao nível do gene *env* (Dunham & Graham, 2008; Lutz et al., 2009). O tropismo para os linfócitos T deu origem à designação do subtipo T (Dunham & Graham, 2008; Lutz et al., 2009; Costa & Norsworthy, 2011). Apesar de não serem transmissíveis, os subtipos B, C e T poderão sofrer mutações/recombinações que dêem origem ao subtipo A (Hartmann, 2006; Costa & Norsworthy, 2011).

2.2.2 Epidemiologia

2.2.2.1 Distribuição e Prevalências

Este agente encontra-se distribuído a nível mundial, sendo a sua prevalência influenciada sobretudo pela densidade animal, não havendo contudo variações geográficas expressivas (Hartmann, 2006; Costa & Norsworthy, 2011).

2.2.2.2 Transmissão

O agente é excretado ao nível da saliva (onde a concentração do vírus é superior à do plasma), secreções nasais, fezes e leite, pelo que a transmissão ocorre principalmente através do contacto social como *grooming*, mordeduras e alimentação conjunta, e durante a gravidez ou lactação (Hardy et al., 1976; Pacitti, Jarrett & Hay, 1986; Gomes-Keller et al., 2006b; Hartmann, 2006; Levy et al., 2008b; Lutz et al., 2009; Costa & Norsworthy, 2011). A transmissão através de fomites é pouco provável, mas infecção iatrogénica com material infectado, nomeadamente agulhas ou material cirúrgico, ou por transfusão sanguínea pode ocorrer, uma vez que o sangue também é considerado um material infectante (Levy et al., 2001; Hartmann, 2006; Levy et al., 2008b; Lutz et al., 2009; Costa & Norsworthy, 2011).

As pulgas, de onde foi já isolado ARN viral, assim como nas suas fezes, são consideradas uma potencial fonte de infecção (Vobis et al., 2003; Hartmann, 2006).

O potencial zoonótico deste agente não está ainda completamente esclarecido, pois sabe-se que o vírus consegue crescer em cultura de células de MO humanas e vários estudos epidemiológicos associaram já a presença de FeLV ao desenvolvimento de leucemia em crianças. Contudo, até ao momento nenhum indivíduo foi identificado com virémia por FeLV, pelo que o vírus não é considerado um perigo para a Saúde Pública (Hartmann, 2006).

2.2.2.3 Factores de Risco

A idade do animal, e a densidade populacional e as condições de higiene do local onde este habita, são considerados factores de risco na infecção por FeLV (Grant, Essex, Gardner & Hardy, 1980; Levy et al., 2001; Hartmann, 2006; Lutz et al., 2009; Akhtardanesh et al., 2010; Costa & Norsworthy, 2011).

2.2.3 Patogenia e Fases da infecção

A infecção por FeLV inicia-se geralmente ao nível da orofaringe, onde o agente se replica nos linfócitos e macrófagos dos linfonodos regionais (Dunham & Graham, 2008; Lutz et al., 2009; Costa & Norsworthy, 2011). Após a exposição ao vírus, a infecção poderá decorrer sob quatro formas diferentes. Factores como a idade e o grau de imunidade do animal aquando da infecção, o subtipo e a carga viral infectante, a via de exposição e a presença concomitante de outras doenças, influenciam o desfecho da infecção, sendo a acção dos linfócitos T citotóxicos preponderante (Flynn, Hanlon & Jarrett, 2000; Hartmann, 2006; Dunham & Graham, 2008; Levy et al., 2008b; Lutz et al., 2009; Costa & Norsworthy, 2011).

Actualmente acredita-se que a maioria dos animais consegue reverter para um estado avirémico, nos quais não são detectados Ag's e apenas se consegue detectar o ADN do provírus no sangue (Hofmann-Lehmann et al., 2001; Torres, Mathiason, Hoover, 2005; Hartmann, 2006; Levy et al., 2008b; Lutz et al., 2009; Costa & Norsworthy, 2011). Este tipo de infecção, denominada "infecção regressiva", ocorre em cerca de 30-40% dos animais e é acompanhada de uma resposta imunitária eficiente, em que a replicação viral é controlada antes ou aquando da infecção da MO, pelo que a replicação viral ocorre apenas ao nível do tecido linfóide da orofanrínge. A resposta imunitária que se estabelece, em parte humoral e outra celular, protege o animal de exposições subsequentes, provavelmente durante anos, pelo que estes animais têm baixo risco de desenvolver doenças associadas à infecção por FeLV. (Hartmann, 2006; Dunham & Graham, 2008; Levy et al., 2008b; Lutz et al., 2009; Costa & Norsworthy, 2011). Estima-se que cerca de 2% destes animais não tenham Ac's detectáveis (Hartmann, 2006).

Uma virémia transitória caracteriza a "infecção abortiva", em que a resposta imunitária que se estabelece não é suficiente para eliminar o vírus precocemente, pelo que este se difunde

sistemicamente através de linfócitos e monócitos da corrente sanguínea e linfática, atingindo órgãos-alvo como timo, baço, linfonodos e glândulas salivares (Hartmann, 2006; Dunham & Graham, 2008; Lutz et al., 2009; Costa & Norsworthy, 2011). A virémia que se estabelece um a três dias após infecção, é controlada em três a seis, ou no máximo dezasseis semanas, geralmente antes de o vírus atingir a MO (Hartmann, 2006). Muitos destes animais conseguem eliminar o vírus por completo, havendo apenas detecção de proteínas virais, isto é Ag's, no sangue (antigenémia), e têm baixo risco de desenvolver doenças associadas ao FeLV (Hartmann, 2006).

A integração do vírus no genoma das células do hospedeiro dá origem ao provírus, cuja carga plasmática atinge um pico máximo às três semanas após infecção (Tandon et al., 2005). Devido à infecção das células de divisão rápida da MO, os viriões são produzidos a uma elevada taxa, infectando sobretudo granulócitos e plaquetas, pelo que uma grave virémia secundária se instala entre três a dezasseis semanas (Lutz et al., 2009; Costa & Norsworthy, 2011). A partir deste momento, a eliminação completa do provírus deixa de ser possível (Hartmann, 2006).

Quando o provírus persiste latente ao nível da MO mas não há produção activa de vírus e a antigenémia é apenas transitória, estamos perante uma “infecção latente”, pelo que estes animais não são veículo de infecção para outros (Torres et al., 2005; Hartmann, 2006; Dunham & Graham, 2008; Hofmann-Lehmann et al., 2008; Costa & Norsworthy, 2011). Este tipo de infecção poderá explicar a imunossupressão ou alterações hematopoiéticas malignas observadas em muitos animais negativos ao FeLV (Hartmann, 2006). A reactivação poderá ocorrer em casos de imunossupressão ou stress (gravidez ou lactação), o que contudo parece ser pouco frequente, uma vez que a reactivação vai sendo cada vez mais difícil com o passar do tempo (Rojko, Hoover, Quackenbush & Olsen, 1982; Hartmann, 2006; Lutz et al., 2009; Costa & Norsworthy, 2011). Presume-se que um ano após infecção a reactivação seja pouco provável, sendo praticamente impossível ao fim de dois anos, o que poderá ser explicado pelo tropismo do vírus por células de divisão rápida, em que a informação genética para a produção de partículas virais se vai perdendo ao longo do tempo (Hartmann, 2006). Estima-se que três anos após a infecção, apenas 8% dos animais permaneçam com infecção latente, o que leva alguns autores a considerar a latência apenas como uma fase do processo de eliminação completa do vírus (Hartmann, 2006; Costa & Norsworthy, 2011).

Nos casos mais graves uma “infecção progressiva/persistente” estabelece-se quando a carga viral infectante ultrapassa a capacidade eliminatória do sistema imunitário, e o animal não consegue debelar a infecção, tornando-se persistentemente infectado. Esta ocorre quando a virémia se estabelece por mais de dezasseis semanas e caracteriza-se por baixo nível de Ac's, antigenémia persistente e elevada carga de provírus. Estima-se que este tipo de infecção ocorra em cerca de 30-40% dos animais que contactam com o agente, sendo que a maioria sucumbe num período de três anos por doenças associadas ao FeLV (Lutz,

Pedersen & Theilen, 1983; Flynn et al., 2000; Flynn, Dunham, Watson & Jarrett, 2002; Torres et al., 2005; Hartmann, 2006; Hofmann-Lehmann et al., 2007; Hofmann-Lehmann et al., 2008; Levy et al., 2008b).

Contudo, a detecção de Ac's em animais sem uma segunda exposição ao vírus durante anos sugere que os gatos não serão capazes de debelar por completo a infecção por FeLV (Lutz et al., 2009). No entanto, o risco de reactivação da excreção e/ou desenvolvimento de doença parece ser baixo uma vez que a esperança de vida destes animais é semelhante à dos animais não infectados por FeLV (Lutz et al., 2009). O facto de o provírus integrar o genoma das células hematopoiéticas do hospedeiro faz com que nunca chegue a ser eliminado (Cattori, Tandon, Pepin, Lutz & Hofmann-Lehmann, 2006; Dunham & Graham, 2008; Costa & Norsworthy, 2011), o que poderá explicar a persistência dos Ac's neutralizantes nos animais que recuperam da infecção (Dunham & Graham, 2008; Levy et al., 2008b).

Uma forma atípica da infecção foi já observada em 10% dos animais com inoculação experimental do vírus. Nesta, observa-se uma replicação local persistente ao nível do baço, linfonodos, intestino delgado, glândula mamária, bexiga ou olhos, o que poderá resultar numa produção intermitente ou baixa do Ag p24 (Pacitti et al., 1986 citado por Levy et al., 2008b; Hartmann, 2006; Levy et al., 2008b).

2.2.4 Sinais clínicos

A manifestação clínica da infecção por FeLV ocorre geralmente em animais com virémia activa. Um animal infectado com FeLV poderá permanecer assintomático durante anos mas de uma forma geral, os sinais clínicos aparecem entre três meses a três anos após infecção e poderão persistir durante anos (Hardy et al., 1976; Levy et al., 2001; Lutz et al., 2009). O tropismo do vírus para células de divisão rápida, poderá justificar a maioria dos sintomas observados nos animais infectados com FeLV, sendo que o subtipo B está geralmente associado a alterações malignas e o subtipo T induz a lise dos linfócitos T, de onde resulta uma imunossupressão grave (Hartmann, 2006; Dunham & Graham, 2008).

A imunossupressão induzida pelo FeLV, com diminuição e atraso na resposta primária e secundária por parte dos Ac's, é mais grave do que a observada nos animais infectados com FIV, e não está necessariamente associada à manifestação de sinais clínicos por parte dos animais (Lutz et al., 2009). A debilidade imunitária poderá desencadear infecções por agentes a que normalmente estes animais são resistentes ou exacerbar infecções pré-existentes (anexo 5).

Mais de 50% dos animais com leucemia não-linfóide são FeLV positivos, e diferentes tipos de leucemia aguda têm sido encontrados nestes animais, de acordo com o tipo celular (Hartmann, 2006; Lutz et al., 2009). Ainda por mecanismos imuno-mediados e mielossupressão, poder-se-ão também observar casos de trombocitopenia e neutropenia

(Grant et al., 1980; Hartmann, 2006; Gleich & Hartmann, 2009; Lutz et al., 2009; Costa & Norsworthy, 2011).

Os linfomas associados ao FeLV, geralmente do tipo T, são dos tumores mais frequentes em gatos, apesar de a sua incidência ter vindo a diminuir ao longo dos anos, devido à diminuição da prevalência de FeLV (Louwerens, London, Pedersen & Lyons, 2005; Hartmann, 2006; Dunham & Graham, 2008; Lutz et al., 2009). Estima-se que a incidência de linfomas seja 888 vezes mais elevada em animais infectados com FeLV do que em animais saudáveis (Hardy et al., 1976). Entre 75-90% dos linfomas associados ao timo são observados em animais jovens infectados com FeLV, enquanto que 25-30% dos linfomas alimentares ocorrem em animais mais velhos (Hartmann, 2006; Dunham & Graham, 2008). Os linfomas multicêntricos são no entanto os mais observados, sendo que cerca de 90% destes tumores atingem animais FeLV positivos com aproximadamente quatro anos de idade (Dunham & Graham, 2008).

A anemia observada poderá ser ou não regenerativa, sendo que a anemia hemolítica resulta geralmente de infecções secundárias por *M. haemofelis*, linfomas, doença mieloproliferativa ou imunossupressora (Mackey, Jarrett, Jarrett & Laird, 1975; Hardy et al., 1976; Grant et al., 1980; Hartmann, 2006; Dunham & Graham, 2008; Lutz et al., 2009; Akhtardanesh et al., 2010; Costa & Norsworthy, 2011). O subtipo C, em particular, interfere com o transporte do grupo heme o que resulta em anemia não-regenerativa (Tailor, Willett & Kabat, 1999; Quigley et al., 2000; Quigley et al., 2004; Hartmann, 2006; Lutz et al., 2009; Costa & Norsworthy, 2011).

A linfadenopatia periférica, por vezes observada, deverá ser diferenciada de linfoma periférico (Moore, Emerson, Cotter & DeLellis, 1986; Lutz et al., 2009).

A deposição de complexos imunes e a perda da actividade supressora dos linfócitos T são factores que contribuem para a manifestação de glomerulonefrite, poliartrite e uveíte por parte dos animais infectados (Hartmann, 2006; Lutz et al., 2009).

Estes animais estarão também mais predispostos a manifestar alterações inflamatórias ao nível da cavidade oral (Tenorio, Franti, Madewell & Pedersen, 1991; Ferreira et al., 2002; Lutz et al., 2009), assim como enterite crónica por degeneração das células epiteliais intestinais e necrose das criptas, ou doença inflamatória e degenerativa do fígado (Reinacher, 1978, 1989; Hartmann, 2006; Dunham & Graham, 2008; Lutz et al., 2009; Akhtardanesh et al., 2010).

No que se refere ao aparelho reprodutor, infertilidade, reabsorção fetal, aborto, nado-mortos ou crias com atrofia do timo e baixa taxa de sobrevivência, são situações associadas à infecção por FeLV, sendo contudo já pouco observadas actualmente (Hardy et al., 1976; Hartmann, 2006; Lutz et al., 2009; Costa & Norsworthy, 2011).

As alterações neurológicas manifestam-se como neuropatias periféricas e resultam directamente da infecção por FeLV (Lutz et al., 2009).

A nível cutâneo foi já descrita dermatose de células-gigantes e cornos epidérmicos das almofadas palmares/plantares, assim como dermatite miliar e otite externa (Gross, Clark, Hargis, Head & Hainesh, 1993; Favrot et al., 2005; Gross, Ihrke, Walde & Affolter, 2005; Hartmann, 2006).

O Vírus do Sarcoma Felino (FeSV) deriva de uma recombinação *in vivo* em que oncogenes são integrados no genoma do FeLV-A, e está associado à ocorrência de fibrossarcomas múltiplos em animais jovens, o que não se sucede nos sarcomas únicos nem nos associados ao local de injeção, em que a associação com FeSV ou FeLV não foi ainda comprovada (Hartmann, 2006; Kirpensteijn, 2006; Dunham & Graham, 2008; Lutz et al., 2009).

Foram já descritas outras alterações proliferativas com maior incidência em animais infectados com FeLV, como mielofibrose, osteossarcoma e neuroblastoma olfativo, mas ao contrário do que outrora se pensava, o melanoma da íris não está associado a este agente (Hartmann, 2006).

2.2.5 Diagnóstico

2.2.5.1 Detecção de Antígeno

O ELISA para detecção de Ag's (proteína p27) é indicativo de antigenémia mas não necessariamente de virémia. A proteína poderá ser detectada uma semana após contacto com agente na saliva e lágrimas, mas resultados mais fiáveis obtêm-se na detecção no soro ou plasma sanguíneo (Jarrett, Golder & Stewart, 1982, citado por Levy et al., 2008b; Hawkins, Johnson, Pedersen & Winston, 1986, citado por Levy et al., 2008b; Lutz & Jarrett, 1987; Levy et al., 2001; Flynn et al., 2002; Hartmann, 2006; Lutz et al., 2009). Estima-se que cerca de 5-10% dos animais positivos ao provírus por PCR não são identificados por ELISA quando não há Ag's circulantes (Hofmann-Lehmann et al., 2001; Gomes-Keller et al., 2006; Lutz et al., 2009;). Contudo, é um teste altamente sensível e específico, na medida em que nenhum dos resultados positivos a ELISA é negativo no PCR (Jacobson, 1991; Lutz et al., 2009). É um dos métodos de eleição numa primeira abordagem ao diagnóstico de FeLV (Levy et al., 2001; Hartmann, 2006).

A imunocromatografia de membrana tem sensibilidade e especificidade semelhantes ao ELISA, que rondam os 95,4% e 97,2%, respectivamente (Hartmann et al., 2007; Pinches et al., 2007; Lutz et al., 2009), sendo um método de diagnóstico útil na prática clínica (Levy et al., 2001).

A imunofluorescência permite a detecção de Ag's associados a células (leucócitos e plaquetas) pelo que deverá ser realizado em sangue total ou esfregaços de MO (Levy et al., 2001; Levy et al., 2008b; Costa & Norsworthy, 2011). Um resultado positivo é altamente sugestivo de virémia persistente, geralmente secundária à invasão da MO (Levy et al., 2001;

Dunham & Graham, 2008; Levy et al., 2008b). Tem sensibilidade bastante inferior a 100% quando comparado com o isolamento viral, mas um resultado positivo é, geralmente, indicativo de antigenemia persistente (Hawks, Legendre & Rohrbach, 1991b; Levy et al., 2008b; Lutz et al., 2009). A ligação de eosinófilos ao composto fluorescente poderá resultar em falsos positivos, assim como um esfregaço demasiado espesso ou com excesso de composto fluorescente (Floyd, Suter, Lutz, 1983; Levy et al., 2008b). Um animal com leucopénia ou com reduzido número de leucócitos infectados poderá ser erroneamente interpretado como negativo (Floyd, Suter, Lutz, 1983; Levy et al., 2008b). Também os animais com infecção regressiva ou sem invasão da MO são negativos aquando da detecção de Ag's (Levy et al., 2008b).

A utilização do PCR em tempo real permite a detecção e quantificação de provírus (ADN) em sangue total, por vezes uma semana após contacto com o agente (Hofmann-Lehmann et al., 2001; Flynn et al., 2002; Tandon et al., 2005; Cattori et al., 2006; Hofmann-Lehmann et al., 2008; Levy et al., 2008b). Na infecção latente a detecção do provírus deverá ser efectuada na MO (Costa & Norsworthy, 2011). É um método altamente sensível e específico, sendo particularmente útil para despistar resultados duvidosos em ELISA (Hofmann-Lehmann et al., 2008; Levy et al., 2008b; Lutz et al., 2009). Crias que adquirem a infecção através da mãe poderão ter um resultado negativo durante semanas ou mesmo meses após nascimento (Levy et al., 2008b).

À semelhança do provírus, uma semana após exposição ao agente poderá ser realizado um PCR em tempo real em sangue total, soro, plasma, saliva, MO ou fezes que permite a detecção e quantificação de vírus (ARN), mesmo que este se encontre livre, na ausência de conteúdo celular (Gomes-Keller et al., 2006a; Gomes-Keller et al., 2006b; Hofmann-Lehmann et al., 2008; Levy et al., 2008b; Lutz et al., 2009). Se realizado sob condições óptimas, este método é o mais sensível na detecção de FeLV (Levy et al., 2008b). Um resultado positivo pode ocorrer independentemente da presença de Ag's no sangue (Hofmann-Lehmann et al., 2001).

No isolamento viral detecta-se o virião completo, pelo que é indicativo de virémia. É considerado o *gold standard* na detecção de FeLV mas, por questões de logística, não é utilizado por rotina (Hartmann, 2006; Dunham & Graham, 2008; Lutz et al., 2009).

Uma vez que nenhuma das metodologias descritas é 100% eficaz, os resultados obtidos terão de ser interpretados cuidadosamente. Assim, um resultado positivo num animal com baixo risco de infecção deverá ser sempre confirmado, sobretudo quando o animal se encontra assintomático, independentemente da sensibilidade e especificidade do teste utilizado. Pelo contrário, considerando a baixa prevalência de FeLV na maioria das populações, um resultado negativo é mais fiável, mesmo que a sensibilidade e especificidade do teste utilizado não sejam as mais elevadas (Jacobson, 1991; Levy et al.,

2001; Dunham & Graham, 2008). Resultados discordantes entre testes poderão advir da fase de infecção, da variabilidade de respostas do hospedeiro ou questões técnicas inerentes a cada teste (Levy et al., 2001; Hartmann, 2006; Levy et al., 2008b). Se o resultado de um teste for duvidoso, o animal deverá ser testado 60 dias depois (nunca antes dos 28 dias após hipotética exposição ao agente), onde deverá ser ponderada a utilização de uma metodologia de diagnóstico diferente (Levy et al., 2001; Hartmann, 2006; Levy et al., 2008b).

Visto que nenhum dos métodos supracitados detecta Ac's, a presença de Ac's maternos ou vacinais não influencia os resultados obtidos, podendo o animal ser testado independentemente da sua idade (Levy et al., 2001; Hartmann, 2006; Dunham & Graham, 2008).

2.2.5.2 Detecção de Anticorpo

Os resultados poderão ser difíceis de interpretar uma vez que o animal pode desenvolver Ac's contra o enFeLV, pelo que é um método raramente utilizado (Lutz et al., 2009). Por outro lado, a detecção de Ac's em animais com virémia persistente poderá, por vezes, não ser possível, o que levaria a obtenção de um resultado falso negativo (Flynn et al., 2002).

2.2.6 Tratamento

Tal como já foi referido, a imunossupressão inerente à infecção por FeLV está muitas vezes associada a infecções por agentes oportunistas. Deste modo, uma terapia de suporte face a essas infecções secundárias, revela-se muitas vezes mais eficaz, no que respeita à melhoria clínica e de qualidade de vida dos animais infectados, que uma terapia antiviral, geralmente fora do alcance dos proprietários.

Independentemente da terapêutica estipulada, o animal deverá ser avaliado a cada seis a doze meses, com realização de exame físico rigoroso e exames de controlo (hemograma, análises bioquímicas, urianálise e análise coprológica) (Levy et al., 2001; Hartmann, 2006; Levy et al., 2008b; Lutz et al., 2009; Costa & Norsworthy, 2011).

2.2.6.1 Tratamento de suporte

A administração de AIE's ou outros fármacos supressores da MO ou da resposta imunitária deverá ser evitada, excepto se for indicada no tratamento de alterações malignas ou imunomediadas associadas à presença de FeLV (Hartmann, 2006; Lutz et al., 2009; Costa & Norsworthy, 2011). No caso da gengivo-estomatite crónica, será preferível a extracção dentária completa com administração de AINE's, a uma terapia de longo prazo com AIE's (Levy et al., 2008b; Addie, 2010).

A transfusão sanguínea poderá ser benéfica em animais com anemia não-regenerativa, assim como a administração de factores estimulantes dos granulócitos (rHuG-CSF) em

casos de leucopénia grave (Fulton, Gasper, Ogilvie, Boone, Dornsife, 1991; Hartmann, 2006; Costa & Norsworthy, 2011). A administração de rHuEPO poderá ser necessária mesmo que o nível plasmático de EPO de encontre elevado (Hartmann, 2006).

A resposta à quimioterapia aplicada aos linfomas é bastante variável de animal para animal, mas observou-se que os animais tratados com ciclofosfamida, vincristina e prednisona (protocolo COP) apresentaram taxas de remissão até 75% em 150 dias (Hartmann, 2006; Lutz et al., 2009).

Poderão ainda ser considerados como tratamento de suporte na infecção por FeLV outros compostos como o acemannan, *Propionibacterium acnes*, proteína A do *Staphylococcus*, PIND-ORF e o imunomodulador de linfócitos T, mas cujo estudo do seu benefício deverá ainda ser aprofundado (Hartmann, 2006; Costa & Norsworthy, 2011).

2.2.6.2 Tratamento Antiviral

A eficácia dos antivirais e dos imunomodeladores é ainda limitada e com inúmeros efeitos secundários, e são poucos os estudos controlados que avaliaram os seus resultados (Hartmann, 2006; Levy et al., 2008b; Hartmann et al., 1998).

O IFN- ω , como composto antiviral e imunomodelador, demonstrou ser eficaz na melhoria dos sinais clínicos e alterações hematológicas, assim como no aumento da esperança média de vida de animais infectados com FeLV (de Mari et al., 2004; Hartmann, 2006; Levy et al., 2008b; de Mari et al., 2004; Costa & Norsworthy, 2011).

A inibição da replicação viral, tanto *in vitro* como *in vivo*, foi também demonstrada pelo AZT (zidovudina), em que se constatou uma diminuição da antigenémia, melhoria no estado clínico e imunológico dos animais, e aumento da qualidade de vida e do tempo de sobrevivência (Hartmann, 2006; Lutz et al., 2009). Nunca deverá ser administrado em associação com outros agentes mielossupressores, estando ainda contra-indicado em animais com depressão grave da MO. Em animais com doença renal crónica, a dose deverá ser reduzida (Hartmann, 2006).

2.2.7 Prevenção

A prevenção da infecção por FeLV nas suas diferentes vertentes e o seguimento correcto dos animais infectados, assumem-se como passos fundamentais no controlo da infecção por este agente, o que se reflecte numa diminuição da sua prevalência, tal como se tem vindo a verificar ao longo dos últimos anos.

2.2.7.1 Maneio geral

Os animais infectados deverão ser separados dos animais saudáveis e ter restrição de acesso ao exterior, de modo a evitar a transmissão do vírus e/ou infecção por outros agentes (Levy et al., 2001; Hartmann, 2006; Levy et al., 2008b; Lutz et al., 2009; Costa &

Norsworthy, 2011). Este isolamento deverá ser também considerado em ambiente hospitalar, com o cuidado de não instalar os animais FeLV positivos na unidade de doenças infecto-contagiosas devido à fragilidade do seu sistema imunitário (Levy et al., 2008b; Lutz et al., 2009). A entrada de novos animais numa habitação deverá ser precedida de um período de quarentena de três a quatro semanas, não por risco de transmissão de FeLV dada a sua labilidade, mas para eliminação de outros agentes potencialmente patogénicos para esses animais (Hartmann, 2006; Levy et al., 2008b; Lutz et al., 2009). A integração de um animal com excreção activa de FeLV numa amostra populacional de animais não infectados é desaconselhada, mesmo que estes estejam vacinados, uma vez que nenhuma das vacinas é 100% eficaz na prevenção desta infecção (Hartmann, 2006).

Deverá ser implementado um plano de controlo de parasitas internos e externos, e a ingestão de carne crua, ovos ou leite não pasteurizado deverá ser evitada, uma vez que podem ser veículo de parasitas e/ou bactérias (Levy et al., 2001; Hartmann, 2006; Levy et al., 2008b; Lutz et al., 2009; Costa & Norsworthy, 2011).

A esterilização, para além de impedir a transmissão transuterina e/ou lactogénica, poderá também evitar conflitos entre animais que culminem na transmissão de agentes infecciosos, sendo a cirurgia, de um modo geral, bem tolerada pelos animais infectados (Hartmann, 2006; Levy et al., 2008b; Lutz et al., 2009; Costa & Norsworthy, 2011).

Uma vez que o provírus tem capacidade infectante, todos os dadores de sangue deverão ser previamente testados para a presença de Ag's e de provírus, de modo a evitar a transmissão do agente ao animal receptor (Levy et al., 2001; Levy et al., 2008b; Costa & Norsworthy, 2011).

Este vírus sobrevive pouco tempo fora do hospedeiro e é facilmente inactivado com detergentes, sabão, calor ou secagem, podendo, contudo, manter a sua capacidade infectante quando em atmosfera húmida e à temperatura ambiente (Francis, Essex & Gayzagian, 1979; Hartmann, 2006; Lutz et al., 2009; Costa & Norsworthy, 2011).

2.2.7.2 Vacinação

Existem vários tipos de vacinas disponíveis no mercado (vivas recombinantes ou inactivadas, com ou sem adjuvante) e que produzem diferentes resultados no que se refere à imunidade adquirida (Hardy et al., 1976; Dunham & Graham, 2008; Lutz et al., 2009). Presume-se que a protecção conferida pela vacina advenha da produção de linfócitos T citotóxicos e não da aquisição de Ac's anti-FeLV (Hawks et al., 1991a; Flynn et al., 2000; Flynn et al., 2002; Hartmann, 2006; Hofmann-Lehmann et al., 2006). Contudo, apesar de nenhuma das vacinais actualmente fabricadas prevenir por completo a infecção, no sentido em que existe sempre uma taxa de replicação viral mínima e integração de provírus (Cattori et al., 2006; Hofmann-Lehmann et al., 2007; Hofmann-Lehmann et al., 2006; Levy et al., 2008b; Lutz et al., 2009), assume-se que baixos níveis de vírus/provírus não são relevantes

do ponto de vista clínico, pelo que se considera o animal como protegido (Lutz et al., 2009). A imunidade induzida pela vacinação persiste durante pelo menos doze meses (Hoover, Mullins, Chu & Wasmoen, 1996; Harbour et al., 2002; Levy et al., 2008b). A administração de vacinas contra o Calicivírus Felino, Herpesvírus Felino tipo 1 e Parvovírus Felino a animais seropositivos é aconselhada, enquanto que as vacinas facultativas deverão ser ponderadas individualmente para cada animal. Animais com FIV, doença renal crónica, diabetes mellitus e hipertiroidismo, poderão ser vacinados desde que se encontrem saudáveis (Richards et al., 2006; Levy et al., 2008b; Lutz et al., 2009).

A vacinação de animais jovens deverá ser ponderada pois, por um lado há a possibilidade de o seu estilo de vida se alterar e estes passarem a integrar o grupo de animais em risco, mas também porque os animais mais jovens desenvolvem geralmente infecção progressiva após o contacto com o agente (Richards et al., 2006; Levy et al., 2008b).

Apesar da associação entre o desenvolvimento de sarcomas vacinais e a vacinação por FeLV não estar ainda esclarecida, vários autores recomendam que a vacina seja administrada no membro posterior esquerdo, o mais distalmente possível, de modo a permitir a excisão cirúrgica no caso de desenvolvimento do sarcoma. As vacinas recombinantes com *canarypox* vírus, actualmente licenciadas para uso na Europa, não induzem inflamação local pelo que estas lesões não têm sido observadas (Hartmann, 2006). O plano de vacinação para o FeLV encontra-se disponível no anexo 6.

2.2.8 Prognóstico

O prognóstico para animais com virémia persistente é reservado (Lutz et al., 2009). O período de sobrevivência vai de dezoito meses a três anos e 70-90% dos animais desenvolvem doenças associadas à infecção por FeLV (Dunham & Graham, 2008; Levy et al., 2008b; Lutz et al., 2009; Costa & Norsworthy, 2011). Nos casos em que o linfoma se encontra disseminado pelo baço, fígado, MO, sangue e/ou órgãos não linfóides, o prognóstico é reservado, e os animais não tratados sucumbem geralmente em um a dois meses (Hartmann, 2006; Lutz et al., 2009).

Tal como referido anteriormente, a idade do animal no momento da infecção por FeLV é o factor mais preponderante no desfecho da infecção (Hoover, Olsen, Hardy, Schaller & Mathes, 1976). Contudo, com cuidados médicos adequados, os animais infectados poderão viver por muito mais tempo, vindo a sucumbir apenas por causas não associadas ao FeLV (Hartmann, 2006).

2.3 Quando testar para FIV e FeLV

O FIV e o FeLV são vírus que induzem graves sequelas na saúde e bem-estar dos animais infectados, com consequentes alterações do seu estilo de vida. A não identificação de um animal infectado poderá incorrer em exposição inadequada a outros agentes patogénicos e

transmissão de FIV e/ou FeLV a animais não infectados. Desta forma, é impreterível que, independentemente da idade, estado vacinal e de testes anteriores negativos, todos os animais sejam testados sempre que surjam alterações do seu estado clínico, mesmo que não compatíveis com a infecção, se encontrem em situação de adopção ou de integrar numa nova residência, mesmo que não esteja previsto que co-habitem com outros felinos, tenham estado sujeitos a situação de risco de infecção (fuga com acesso ao exterior, contacto com animal de estatuto clínico desconhecido, etc.), nunca tenham sido testados, mesmo que não apresentem qualquer tipo de sintomas (possibilidade de se encontrar na fase assintomática da infecção), e se se pretende vacinar, em particular contra FIV e/ou FeLV (Levy et al., 2001; Hartmann, 2006; Richards et al., 2006; Levy et al., 2008b; Hosie et al., 2009; Costa & Norsworthy, 2011).

3 GENGIVO-ESTOMATITE CRÓNICA FELINA

A Gengivo-Estomatite Crónica Felina (GECF) é uma síndrome que se caracteriza por uma inflamação persistente e geralmente grave da cavidade oral, em que apesar de a mucosa ser a área mais afectada, poderão também ser observadas lesões ao nível da língua, gengiva, faringe, lábios, palato duro e mole (Healey et al., 2007; Robson & Crystal, 2011). Afecta felinos dos quatro aos dezassete anos, sendo que a maioria dos animais apresenta em média sete anos (Healey et al., 2007; Robson & Crystal, 2011).

Apesar de a etiologia da GECF não estar ainda esclarecida, pensa-se que seja multifactorial e com uma componente imuno-mediada, que dá origem a uma hipersensibilidade aos agentes que constituem a placa bacteriana oral e/ou aos dentes (Robson & Crystal, 2011). Na base das lesões associadas à GECF está uma densa infiltração linfoplasmocitária ao nível da mucosa e submucosa oral (Radford et al., 2008; Robson & Crystal, 2011). O papel de agentes como Calicivírus Felino (FCV), Herpesvírus Felino (FHV-1), FIV, FeLV e *Bartonella* spp. na etiologia da GECF é ainda controverso (Knowles et al., 1991; Lommer & Verstraete, 2003; Quimby et al., 2008; Belgard, Truyen, Thibault, Sauter-Louis & Hartmann, 2010; Dowers et al., 2010; Lee, Bosward & Norris, 2010; Robson & Crystal, 2011), mas estima-se que mais de 50% dos felinos com GECF estejam infectados com FCV (Radford et al., 2008; Belgard, Truyen, Thibault, Sauter-Louis & Hartmann, 2010). A fraca resposta à administração de antibióticos sugere que as bactérias não serão a causa primária de GECF (Robson & Crystal, 2011).

Os sinais clínicos variam com a gravidade da doença, podendo observar-se ptialismo, halitose, dor na abertura da cavidade oral, dificuldades de preensão, anorexia e perda de peso (Robson & Crystal, 2011).

A GECF deve ser diferenciada dos casos agudos, normalmente auto-limitantes, assim como de doença periodontal, infecção por retrovírus ou FCV, complexo de granuloma eosinofílico, neoplasia ou alterações sistémicas como IRC ou diabetes mellitus (Radford et al., 2008; Robson & Crystal, 2011).

Figura 3. Ptalismo/sialorreia em felino com GECF. (Fonte: original).



Figura 4. Ulceração lingual e gengivite ligeira num felino sem infecção por retrovírus, FCV, FHV-1 e *Candida* spp.. (Fonte: original).



4 DOENÇA RESPIRATÓRIA FELINA

A doença respiratória felina (DRF) é uma síndrome com elevada morbidade e rápida disseminação, sendo portanto bastante comum entre felinos (Dinnage, Scarlett & Richards, 2009). Afecta sobretudo animais que vivem em grupo e são vários os factores de risco que lhe estão associados, como idade, higiene insuficiente, elevada densidade populacional e contacto com canídeos infectados (Binns et al., 1999; Binns et al., 2000; Bannasch & Foley,

2005; Helps et al., 2005; Gaskell, Dawson & Radford, 2006; Dinnage et al., 2009). Apesar da sua etiologia multifactorial, acredita-se que o Herpesvírus Felino-1 e o Calicivírus Felino são os agentes infecciosos com mais impacto na DRF, sendo que o primeiro, apesar de ser menos comum, é responsável pelas alterações clínicas mais graves (Murphy, Gibbs, Horzinek & Studdert, 1999; Binns et al., 2000; Cai et al., 2002; Bannasch & Foley, 2005; Helps et al., 2005; Johnson, Foley, De Cock, Clarke & Maggs, 2005; Gaskell et al., 2006; Grace, 2011b). A *Bordetella bronchiseptica* tem também sido associada à DRF, apesar de a sua contribuição como agente etiológico não estar ainda bem esclarecida (Binns et al., 1999; Bannasch & Foley, 2005; Helps et al., 2005; Gaskell et al., 2006), e a *Chlamydomphila felis* é responsável sobretudo pelo aparecimento das alterações conjuntivais inerentes à DRF (Cai et al., 2002; Bannasch & Foley, 2005; Helps et al., 2005; Gaskell et al., 2006). Nesta síndrome existe ainda o potencial envolvimento de outros agentes como mycoplasmas, bactérias, reovírus felinos e cowpox vírus (Bannasch & Foley, 2005; Johnson et al., 2005; Gaskell et al., 2006), que, embora com um papel minoritário, poderão ser importantes como agentes patogénicos secundários (Gaskell et al., 2006). Por outro lado, a infecção concomitante com retrovírus imunossupressores (FIV e FeLV), está geralmente associada ao agravamento dos sinais clínicos (Dawson et al., 1991; Gaskell et al., 2006). As alterações clínicas comumente observadas nos animais com DRF são espirros, conjuntivite, corrimento nasal e ocular e lesões ulcerativas na cavidade oral, que se reflectem em sinais inespecíficos como letargia e anorexia, entre outros (Binns et al., 1999; Bannasch & Foley, 2005; Gaskell et al., 2006).

5 CALICIVÍRUS FELINO

5.1 Biologia do vírus

O Calicivírus Felino (FCV) é um vírus de cadeia simples de ARN, sem invólucro, que pertence ao género *Vesivirus* da família *Caliciviridae* (Gaskell, Radford & Dawson, 2004; Pesavento, MacLachlan, Dillard-Telm, Grant & Hurley, 2004; Green, 2007; Radford, Coyne, Dawson, Porter & Gaskell, 2007; Pesavento, Chang & Parker, 2008; Radford et al., 2009).

5.2 Epidemiologia

5.2.1 Distribuição e prevalências

O FCV é um vírus ubiquitário a nível mundial, sendo responsável por cerca de 40% das doenças inflamatórias do trato respiratório superior (Quinn, Markey, Donnelly & Leonard, 2002b). Foi isolado pela primeira vez no trato gastrointestinal de um gato, o que poderá

explicar o facto de ser por vezes isolado em fezes, tendo também já sido identificado na urina e sangue de felinos infectados (Forcada, 2008; Pesavento et al., 2008).

5.2.2 Transmissão

A infecção ocorre essencialmente por contacto directo através de secreções infectadas, geralmente ao nível das cavidades oral e nasal e mucosa conjuntiva, pelo que a transmissão indirecta através de fomites é também um importante meio de disseminação do agente (Radford et al., 2007; Addie, 2008a; Forcada, 2008; Norsworthy, 2011). As fezes e a urina parecem ser vias de transmissão pouco relevantes (Gaskell et al., 2004; Radford et al., 2007; Forcada, 2008), e a transmissão vertical *in utero* parece não ocorrer (Radford et al., 2007). Os portadores crónicos alojam o vírus na nasofaringe e excretam-no de uma forma quase contínua, pelo que são uma fonte constante de infecção para outros animais (Forcada, 2008).

Mencke et al. (2009) demonstraram que as fezes de pulgas, em particular *Ctenocephalides felis*, poderão veicular vários agentes patogénicos, nomeadamente FCV, pelo que animais que ingiram fezes infectadas poderão contrair a infecção.

Até ao momento não são conhecidos hospedeiros reservatório ou alternativos de FCV, e os humanos não apresentam susceptibilidade à infecção (Radford et al., 2007; Radford et al., 2009; Norsworthy, 2011).

Apesar da elevada morbilidade, a mortalidade é baixa, excepto nos animais mais jovens devido a pneumonia, que pode atingir os 30% (Quinn et al., 2002b; Pesavento et al., 2004; Pesavento et al., 2008).

A recombinação genética entre estirpes circulantes resulta no aparecimento de novas estirpes infectantes, o que constitui o mecanismo primordial de evolução viral (Coyne et al., 2006c). Estas estirpes, com variabilidade genética superior a 20% entre si, partilham o mesmo genótipo (Coyne, Gaskell, Dawson, Porter & Radford, 2007).

Uma estirpe de Calicivírus Felino Sistémico Virulento (VS-FCV) foi já descrita nos EUA, Reino Unido, Japão e África do Sul (Coyne et al., 2006b; Radford et al., 2007; Addie, 2008a). Esta estirpe apresenta taxas de mortalidade que poderão ser superiores a 67% (Hurley et al., 2004; Pesavento et al., 2004; Foley et al., 2006; Pesavento et al., 2008). Ao contrário do que se sucede com as estirpes de FCV que induzem alterações na cavidade oral e respiratórias, na infecção por VS-FCV os adultos são mais afectados que os animais jovens e aparentemente a vacinação parece ser pouco eficaz nestes casos (Richards et al., 2006; Radford et al., 2007; Addie, 2008a; Radford et al., 2009; Norsworthy, 2011).

5.3 Patogenia da infecção

A infecção por FCV ocorre por via nasal, oral ou conjuntival, e o vírus replica-se essencialmente nos tecidos da boca e das vias respiratórias (Gaskell et al., 2004; Radford et

al., 2007; Radford et al., 2009). Nos três a quatro dias após a infecção ocorre uma virémia transitória que coincide com a detecção do vírus noutros tecidos (Radford et al., 2009; Norsworthy, 2011). A patogenecidade e o tropismo celular podem variar consoante a estirpe, pelo que o vírus também poderá ser encontrado em tecidos viscerais, fezes e ocasionalmente na urina (Gaskell et al., 2004; Radford et al., 2007).

A maioria dos animais excreta o vírus nas secreções orofaríngeas, nasais e conjuntivais durante a fase aguda, 30 dias após o estabelecimento da infecção (Richards et al., 2006; Radford et al., 2009). A maioria dos animais consegue eliminar o vírus espontaneamente, entre os dois e três meses após a infecção aguda, sendo que a proporção de felinos que excreta o agente vai diminuindo ao longo do tempo (Gaskell et al., 2004; Coyne et al., 2007; Radford et al., 2007; Ferocada, 2008). A excreção contínua do vírus por parte dos animais portadores resulta de uma reinfecção constante, seja por diversas variantes de uma mesma estirpe ou com estirpes distintas que circulem na população onde se insere o animal (Radford et al., 2007). A concentração de vírus emitida pelo animal e o tempo de excreção dependem de vários factores, como a presença de infecções concomitantes que debilitem o sistema imunitário do animal, como o FIV por exemplo, em que um animal co-infectado excreta uma maior quantidade de FCV e durante mais tempo (Dawson et al., 1991; Forcada, 2008).

A patogénese da estirpe VS-FCV é ainda desconhecida mas sabe-se que o vírus consegue aceder a compartimentos celulares geralmente não associados ao FCV (Pedersen, Elliott, Glasgow, Poland & Keel, 2000; Radford et al., 2007).

5.4 Sinais clínicos e fases de infecção

O período de incubação da infecção é de três a cinco dias (Quinn et al., 2002b; Norsworthy, 2011).

As múltiplas estirpes de FCV conduzem à manifestação de diferentes formas clínicas, mas, de um modo geral, a sintomatologia apresentada ao nível da cavidade oral e vias aéreas superiores é aguda, moderada e auto-limitada (Pesavento et al., 2004; Radford et al., 2007; Radford et al., 2009).

Na fase aguda, a lesão mais característica da infecção por FCV é o aparecimento de úlceras, geralmente no bordo da língua, com infiltração de neutrófilos ao nível da derme (Quinn et al., 2002b; Gaskell et al., 2004; Radford et al., 2007; Pesavento et al., 2008; Radford et al., 2009). Estas úlceras iniciam-se como vesículas que rupturam devido a necrose das células epiteliais, induzida pelo vírus (Radford et al., 2009). A regeneração epitelial ocorre em duas a três semanas (Gaskell et al., 2004; Radford et al., 2007; Forcada, 2008; Radford et al., 2009).

Outros sinais clínicos comuns na infecção por FCV são febre, rinite, espirros, conjuntivite e hipersialia (Quinn et al., 2002b; Pesavento et al., 2004; Pesavento et al., 2008; Radford et

al., 2009; Norsworthy, 2011). As lesões pulmonares, mais raras e que afectam sobretudo animais jovens, parecem resultar de alveolite focal que evolui para pneumonia exsudativa aguda e, posteriormente, para pneumonia intersticial proliferativa (Quinn et al., 2002b; Gaskell et al., 2004; Radford et al., 2007).

A infecção crónica é caracterizada sobretudo por estomatite crónica e artrite. A gengivo-estomatite crónica está geralmente associada à presença de salivação, úlceras, halitose, disfagia e mau estado do pêlo por incapacidade de efectuar a higienização devido à dor (Forcada, 2008). A artrite, frequentemente associada a anorexia, prostração, efusão sinovial e febre, julga-se que seja resultante da deposição de complexos imunes ao nível da cápsula sinovial (Radford et al., 2007; Forcada, 2008; Pesavento et al., 2008). Vários estudos demonstraram que poderá também haver envolvimento de órgãos internos como pulmão, fígado, baço, pâncreas e linfonodos (Pesavento et al., 2004; Coyne et al., 2006b).

Como referido anteriormente, a maioria dos animais expostos ao FCV conseguem eliminar o agente, pelo que não apresentam alterações clínicas associadas à infecção crónica. Como tal, em animais com manifestação clínica da doença, a pesquisa de causas subjacentes à infecção por FCV que comprometam o sistema imunitário (FIV, FeLV, estro crónico), deverá ser prática comum (Forcada, 2008).

A variante VS-FCV manifesta-se pela ocorrência de úlceras orais, febre (refractária a antibióticos), anorexia, marcado edema subcutâneo (sobretudo na face e membros), alopecia e ulceração do nariz, lábios, orelhas e almofadas plantares, vasculite, icterícia, falência multi-orgânica, choque e morte, por vezes em 24 horas (Pedersen et al., 2000; Schorr-Evans, Poland, Johnson & Pedersen, 2003; Pesavento et al., 2004; Coyne et al., 2006b; Foley, Hurley, Pesavento, Poland & Pedersen, 2006; Radford et al., 2007; Pesavento et al., 2008; Norsworthy, 2011). Poderão ainda ser observadas lesões de necrose no fígado, baço e pâncreas (Radford et al., 2007). Em casos de tromboembolismo ou coagulopatia por coagulação intravascular disseminada (CID) poderão também ser observadas petéquias, equimoses, epistaxis ou melena (Radford et al., 2009).

5.5 Diagnóstico

A persistência de espirros por mais de 48 horas é fortemente indicativa de infecção do trato respiratório superior, seja por vírus, bactérias ou fungos (Norsworthy, 2011).

O FCV pode ser isolado na mucosa oral, orofaríngea e conjuntival de animais suspeitos, sendo a colheita da amostra realizada com uma zaragatoa estéril (Radford et al., 2007).

5.5.1 Detecção de antigénio

A identificação do vírus na amostra (zaragatoa, sangue, raspagem de pele ou tecido pulmonar, dependendo da apresentação clínica) poderá ser realizada por isolamento viral em cultura de células, imunofluorescência, RT-PCR convencional ou *nested* RT-PCR, sendo

que o último parece ser mais sensível (Sykes, Allen, Studdert & Browning, 2001; Marsilio et al., 2005; Coyne et al., 2007).

O isolamento viral, apesar de apresentar uma sensibilidade de cerca de 90%, é útil apenas em infecções agudas, uma vez que a par da melhoria clínica do animal há uma marcada diminuição da excreção viral, o que pode resultar em falsos negativos (Forcada, 2008).

O RT-PCR permite a identificação da estirpe infectante (Richards et al., 2006; Forcada, 2008). Actualmente não existe nenhum *primer* específico para o VS-FCV pelo que o diagnóstico da infecção poderá ser feito através da sequenciação do ARN isolado e comparação com os resultados obtidos em infecções por VS-FCV anteriores (Addie, 2008a). O diagnóstico definitivo da infecção por VS-FCV requer a identificação do agente nos órgãos afectados por imunohistoquímica (Addie, 2008a).

5.5.2 Detecção de anticorpo

A detecção de Ac's por ELISA é pouco útil no que diz respeito ao diagnóstico da infecção uma vez que os Ac's vacinais podem interferir com o resultado, mas poderá servir para aferir acerca do grau de protecção do animal (Lappin, Andrews, Simpson & Jensen, 2002; Radford et al., 2009).

5.5.3 Meios complementares de diagnóstico

A nível hematológico, poder-se-á observar neutrofilia e linfopenia nos estadios iniciais da infecção, tendo também já sido descritos casos de hiperglobulinemia (Forcada, 2008).

5.6 Tratamento

O tratamento da infecção por FCV é sobretudo sintomático, uma vez que não existe nenhum composto antiviral com eficácia comprovada (Forcada, 2008).

5.6.1 Tratamento de suporte

Nos casos mais severos, em que se verifique corrimento nasal mucopurulento e/ou pneumonia, poderão ser administrados antibióticos de largo espectro e com boa penetração ao nível do trato respiratório e/ou mucosa oral, de modo a prevenir infecções bacterianas secundárias (Radford et al., 2007; Radford et al., 2009; Norsworthy, 2011). Se os sinais apresentados forem ligeiros a moderados, poderá ser administrada amoxicilina ou amoxicilina-ácido clavulânico (Forcada, 2008; Norsworthy, 2011). Em casos severos dever-se-á optar por azitromicina ou ácido clavulânico-amoxicilina e uma fluoroquinolona, sendo a marbofloxacinina uma boa opção (Forcada, 2008; Norsworthy, 2011). Se a administração medicamentosa for difícil, poderá então optar-se pela administração subcutânea (SC) de cefovecina (Norsworthy, 2011). Para animais hospitalizados, a associação amoxicilina ou ampicilina com enrofloxacinina é a terapêutica mais indicada (Norsworthy, 2011). Nos casos

de gengivo-estomatite crónica poder-se-á recorrer à clindamicina, amoxicilina, amoxicilina-ácido clavulânico ou metronidazol, durante quatro a seis semanas (Robson & Crystal, 2011). A alimentação do animal deverá ser assegurada através do fornecimento de comida com odor intenso ou aquecida (aumenta o odor), de modo a estimular o apetite do animal cujo olfacto se encontra comprometido devido às secreções inerentes à infecção por FCV (Radford et al., 2007). O recurso a estimulantes de apetite, como ciproheptadina ou mirtazapina, a agentes mucolíticos, como bromexina ou acetilcisteína, ou a descongestionantes nasais, como fenilefrina (contra-indicado em problemas cardíacos), poderá ser útil em alguns casos (Forcada, 2008). O diazepam, anteriormente utilizado como estimulante de apetite, deverá ser evitado pois pode induzir toxicidade hepática aguda (Forcada, 2008). Se o animal apresentar dificuldades na apreensão e mastigação dos alimentos, poderão ser administrados AINE's (meloxicam) ou opióides (buprenorfina), e deverá ser fornecida uma dieta líquida (Forcada, 2008; Radford et al., 2009). Se a anorexia se mantiver por mais de três dias, deverá ser introduzido um tubo de alimentação por esofagostomia ou gastrotomia (contra-indicado em caso de dispneia e depressão grave), ou então por via nasoesofágica (excepto se houver congestão nasal grave ou irritação das vias aéreas superiores) (Radford et al., 2007; Radford et al., 2009; Norsworthy, 2011).

A limpeza e extracção de dentes deverão ser ponderadas em animais com gengivite crónica (Lyon, 2005; Forcada, 2008; Robson & Crystal, 2011).

A hidratação e balanço electrolítico poderão ser mantidos através de fluidoterapia endovenosa ou subcutânea, com especial atenção à suplementação de potássio em animais que se apresentem com anorexia (Forcada, 2008; Norsworthy, 2011). Os electrólitos, hematócrito, proteínas e glucose, especialmente em animais jovens, deverão ser avaliados pelo menos uma vez por dia (Forcada, 2008).

A administração de AINE's ou opióides está também indicada em casos de artrite e febre (Forcada, 2008). Os AIE's poderão ser úteis em casos de artrite, devendo, contudo, a sua administração ser ponderada devido ao comprometimento da resposta imunitária que induzem, sendo ainda contra-indicados em casos de úlcera na córnea (Forcada, 2008; Norsworthy, 2011).

Para o tratamento da conjuntivite deverá ser prescrito um antibiótico (cloranfenicol ou tetraciclina) sob a forma de colírio ou pomada oftálmica, um AINE (Voltaren®) e um midriático cicloplégico (atropina) para controlo da dor (Norsworthy, 2011).

5.6.2 Tratamento Antiviral

Os compostos antivirais como IFN- ω , parecem diminuir a gravidade das lesões na infecção aguda e evitar a infecção crónica (Forcada, 2008). A ridarabina, apesar de ter eficácia *in vitro* comprovada, é tóxica na dose necessária (Forcada, 2008).

No que diz respeito à infecção por VS-FCV, também não existe um tratamento específico, pelo que se deve aplicar um tratamento de suporte com administração de antibióticos de largo espectro de acção, nutrição com sonda nasofaríngea ou gástrica (a fluidoterapia endovenosa parece agravar o edema nos animais com vasculite), IFN- ω (Schorr-Evans et al., 2003; Addie, 2008a). O período de convalescença dura entre sete a dez dias, durante o qual, considerando a natureza extremamente contagiosa do vírus, os animais deverão ser tratados em casa (Schorr-Evans et al., 2003).

5.7 Prevenção

Os Ac's maternos, cujo tempo de semi-vida é cerca de quinze dias (Johnson & Povey, 1983), diminuem progressivamente entre as oito e as catorze semanas, podendo o animal estar protegido até cerca dos seis meses de idade (Johnson & Povey, 1983; Quinn et al., 2002b; Richards et al., 2006; Roca, 2008). No entanto, considerando a persistência de animais portadores, por vezes assintomáticos, a dificuldade em escolher uma estirpe viral representativa do panorama geral para integrar uma vacina e a emergência de novas estirpes hipervirulentas de FCV (Radford et al., 2007), a prevenção da infecção impõe-se como um passo fundamental no sentido de assegurar a qualidade de vida dos animais.

5.7.1 Maneio geral

A admissão de novos animais num estabelecimento de abrigo deverá ser precedida de um período de quarentena de três a quatro semanas. Idealmente, durante este período os animais deveriam ser testados para diferentes agentes microbiológicos, independentemente de evidenciarem ou não sinais de alguma infecção em particular (Forcada, 2008).

Em superfícies secas e a temperatura ambiente o vírus pode persistir por vários dias a semanas, ou até mais, se o ambiente for húmido e temperatura baixa (Gaskell et al., 2004; Clay, Maherchandani, Malik & Goyal, 2006). A sua inactivação é possível utilizando hipoclorito de sódio (lixívia) a 5% na diluição 1:32 (>300 ppm) (Gaskell et al., 2004; Duizer et al., 2004; Addie, 2008b; Forcada, 2008; Norsworthy, 2011). Os compostos de amónio quaternário, aldeídos, detergentes, clorexidina e etanol a 70% não demonstraram ser eficientes na inactivação completa do vírus (Doultree, Druce, Birch, Bowden & Marshall, 1999; Duizer et al., 2004; Poschetto et al., 2007).

A par das medidas acima descritas, a diminuição da densidade populacional e os cuidados de higiene deverão ser assegurados, de modo a diminuir a dispersão do agente (Radford et al., 2007; Addie, 2008b).

5.7.2 Vacinação

Estão actualmente disponíveis vários tipos de vacinas, que são, de um modo geral, consideradas seguras e eficazes na prevenção ou redução dos sintomas associados à

infecção por FCV (Radford et al., 2007). Estas vacinas são na maioria monovalentes, derivando das estirpes FCV F9, FCV 255, ou mais recentemente, FCV 431 e FCV G1, o que, considerando o variado número de estirpes circulantes, se tem demonstrado pouco eficaz, uma vez que são poucas as estirpes que conferem protecção cruzada entre si (Kahn, Hoover & Bittle, 1975; Povey & Ingersoll, 1975; Quinn et al., 2002b; Poulet et al., 2005; Richards et al., 2006; Addie et al., 2008; Roca, 2008). Nos EUA, em 2007, foi lançada uma vacina contra o VS-FCV, mas existem ainda dúvidas acerca da sua eficácia (Roca, 2008). As vacinas podem ser vivas atenuadas ou inactivadas, com ou sem adjuvante, e deverão ser administradas por via parentérica ou intranasal (Quinn et al., 2002b; Richards et al., 2006; Radford et al., 2007). As vacinas vivas atenuadas sem adjuvante administradas por via intranasal induzem imunidade local ao nível da mucosa e parecem ser mais eficientes, necessitando apenas de uma só administração para induzir protecção, o que não se sucede nas vacinas administradas por via parentérica (Radford et al., 2007). A via intranasal, em detrimento da via parentérica, é escolha de muitos clínicos talvez por receio de ocorrência de reacções associadas ao local de vacinação como o sarcoma vacinal, algo comum em felinos (Radford et al., 2007). A desvantagem destas vacinas é o aparecimento de sinais clínicos em alguns animais, devido à replicação viral que ocorre no local de inoculação (Radford et al., 2007).

De modo a reduzir os sinais clínicos nas crias, as fêmeas deverão ser vacinadas antes da cobertura ou, caso não seja possível, durante a gestação, em que a administração de vacinas vivas deverá ser evitada, em particular aquelas que contenham parvovírus felino vivo (Richards et al., 2006; Radford et al., 2007; Norsworthy, 2011). A vacinação de animais com gengivo-estomatite crónica é contra-indicada (Addie, 2008b). Os animais infectados com FIV e/ou FeLV poderão ser vacinados para FCV desde que não revelem alterações de estado geral (Richards et al., 2006).

A imunidade transmitida pelos Ac's maternos ou a adquirida através da vacinação, não impede o animal de contrair o agente, quer seja uma outra estirpe não veiculada pela vacina ou reinfeção pela mesma estirpe vacinal, nem de se tornar portador com capacidade de excretar o vírus durante meses ou mesmo anos (Radford et al., 2001; Quinn et al., 2002b; Poulet, Brunet, Leroy & Chappuis, 2005; Radford et al., 2007; Addie, 2008b).

O plano de vacinação recomendado para o FCV encontra-se disponível no anexo 6.

5.8 Prognóstico

O prognóstico é, de um modo geral favorável, à excepção dos animais infectados com FCV-VS, sobretudo aqueles que desenvolvem anorexia e/ou desidratação e os que não são atempadamente submetidos a terapêutica agressiva (Norsworthy, 2011).

6 HERPESVÍRUS FELINO TIPO 1

6.1 Biologia do vírus

O Herpesvírus Felino do tipo 1 (FHV-1) pertence ao género *Varicellovirus* da subfamília *Alphaherpesvirinae* (Weigler, Guy, Naisse, Hancock & Sherry, 1997a; Gaskell, Dawson, Radford & Thiry, 2007; Gould, 2011). Os herpesvírus possuem uma dupla cadeia de ADN, protegida por invólucro (Quinn, Markey, Donnely & Leonard, 2002b; Gaskell et al., 2007).

6.2 Epidemiologia

6.2.1 Distribuição e prevalências

São conhecidas várias estirpes herpesvírus, mas todas pertencem apenas a um serotipo (Gaskell et al., 2007; Thiry et al., 2009).

O FHV-1 apresenta uma distribuição mundial e estima-se que até 97% dos felinos tenham evidência serológica de exposição ao agente (Field, Biswas & Mohammad, 2006; Thiry et al., 2009).

6.2.2 Transmissão

Embora o FHV-1 já tenha sido isolado em felídeos como chitas e leões, tenham sido detectados Ac's em pumas, e esteja genética e antigenicamente relacionado com o herpesvirus canino e das focas, não estão descritas transmissões inter-espécies. No entanto, e apesar de os felinos domésticos continuarem a ser o principal hospedeiro deste vírus, acredita-se que toda a família *Felidae* seja susceptível (Lebich et al., 1994; Harder & Osterhaus, 1997; Murphy, Gibbs, Horzinek & Studdert, 1999; Willoughby, Bennett, McCracken & Gaskell, 1999; Martina, Harder & Osterhaus, 2003; Gaskell et al., 2007; Thiry et al., 2009).

Até ao momento, não há evidências de contágio do vírus para humanos (Thiry et al., 2009; Grace, 2011b).

O contacto directo com secreções orais, nasais ou oculares de animais com excreção activa de FHV-1 é o principal modo de transmissão, sendo que as fomites são uma via de transmissão viral importante apenas ao nível dos gatis (Gaskell et al., 2007; Thiry et al., 2009; Gould, 2011; Grace, 2011b).

A transmissão por via transplacentária não foi ainda observada, mas a inoculação do vírus por via vaginal em fêmeas gestantes levou ao desenvolvimento de vaginite e infecção congénita das crias, enquanto que a inoculação intravenosa resultou em infecção fetal congénita, morte intrauterina e aborto (Hoover & Griesemer, 1971; Gaskell & Povey, 1982; Gaskell et al., 2007; Thiry et al., 2009; Grace, 2011b).

6.2.3 Factores de risco

A idade do animal aquando da infecção, assim como a higiene e a densidade populacional do local onde o animal habita, têm sido identificados como potenciais factores de risco nesta infecção (Fargeaud, Jeannin, Kato & Chappuis, 1984; Weigler et al., 1997a; Stiles, 2003; Grace, 2011b).

6.3 Patogenia da infecção

O FHV-1 entra no organismo através da boca, nariz e conjuntiva, e a disseminação para a faringe, traqueia, brônquios e bronquíolos ocorre por lise das células epiteliais.

A replicação viral ocorre predominantemente na mucosa do septo nasal, turbinados, nasofaringe e tonsilas, e em outros tecidos como conjuntiva, pulmão, linfonodos mandibulares e faríngeos e porção superior da traqueia (Hoover, Rohovsky & Griesemer, 1970; Gaskell, Dennis, Goddard, Cocker & Wills, 1985; Weigler et al., 1997a; Gaskell et al., 2007; Thiry et al., 2009; Grace, 2011b). Já no sistema nervoso, o vírus dissemina-se ao longo dos nervos sensoriais, até atingir os neurónios, em particular o gânglio trigeminal (Gaskell et al., 1985; Nasisse, Davis, Guy, Davidson & Sussman, 1992; Thiry et al., 2009; Grace, 2011b).

As lesões caracterizam-se por necrose multifocal do epitélio das mucosas do tracto respiratório, com infiltração neutrofílica e inflamação (Hoover et al., 1970; Gaskell et al., 2007; Thiry et al., 2009).

Após inoculação intranasal, apesar da elevada replicação e subsequente necrose ao nível da mucosa, não há detecção do vírus no sangue nem plasma, o que sugere que o agente permanece no trato respiratório superior (Hoover & Griesemer, 1971).

Em neonatos e crias hipotérmicas poderá ocorrer uma virémia transitória, embora invulgar, associada à presença de células mononucleares, o que se deve ao aumento da taxa de replicação viral a baixas temperaturas (Gaskell et al., 2007). Durante os períodos de virémia activa, o vírus, obrigatoriamente intracelular, propaga-se célula a célula, daí que o sistema imunitário do hospedeiro não seja significativamente estimulado (Grace, 2011b). Esta virémia, ao contrário do período de recrudescência, parece ser importante na patogénese da infecção primária (Westermeyer, Thomasy, Kado-Fong & Maggs, 2009). A “recrudescência” é definida como a manifestação clínica da infecção, por reactivação da excreção (Thiry et al., 2009).

A excreção do FHV-1 que se inicia nas 24 horas após a infecção e pode durar uma a três semanas, ocorre ao nível das secreções oronasais e conjuntivais, sendo, no entanto, os turbinados nasais o principal local de replicação (Thiry et al., 2009; Grace, 2011b). Esta poderá ser subclínica ou acompanhada de sinais clínicos (Gaskell et al., 1985; Maggs et al., 2003; Gaskell et al., 2007; Thiry et al., 2009; Gould, 2011).

A infecção aguda é debelada ao fim de dez a catorze dias, mas alguns animais poderão desenvolver lesões crônicas a nível ocular e das vias aéreas superiores (Thiry et al., 2009). À fase aguda segue-se a infecção crônica com um período de latência que, nos animais em que o agente atinge o sistema nervoso, e em particular o gânglio trigeminal que constitui um local primordial de latência, se mantém durante toda a sua vida (Gaskell et al., 1985; Nasisse, Davis, Guy, Davidson & Sussman, 1992; Reubel et al., 1993; Quinn et al., 2002c; Thiry et al., 2009; Grace, 2011b). A resposta humoral à infecção é mínima durante este período, sendo que a latência é mantida pela resposta celular (Gould, 2011). Estima-se que cerca de 80% dos animais se tornem portadores após infecção primária e que destes, cerca de 45% tenham episódios recorrentes de doença (Maggs, Nasisse & Kass, 2003; Sila & Davidson, 2011).

A incidência de aborto por FHV-1 é bastante baixa, e ao contrário do que se sucede nas infecções por outros alphaherpesvírus, não é consequência directa da replicação viral mas sim de alterações sistémicas graves, como febre e toxémia, decorrentes da infecção (Hoover & Griesemer, 1971; Hickman et al., 1994; Murphy et al., 1999; Thiry et al., 2009). A transmissão viral das mães com infecção latente para as crias ocorre geralmente durante o parto e/ou amamentação, em que há aumento dos níveis de stress na mãe, com reactivação do FHV-1 e sua posterior excreção (Thiry et al., 2009). O resultado deste contacto com o agente infeccioso, depende fortemente da imunidade transmitida pela mãe via colostro, sendo que nos casos em que as crias possuem títulos elevados de Ac's maternos, poderá desenvolver-se apenas uma infecção subclínica, com possível evolução para estado de latência (Gaskell & Povey, 1982). Os Ac's maternos podem persistir até às dez semanas de idade, mas em alguns estudos foi observado que em cerca de 25% dos animais esses Ac's já não detectados às seis semanas de idade (Gaskell & Povey, 1982; Thiry et al., 2009; Grace, 2011b). Por outro lado, os Ac's neutralizantes resultantes de um primeiro contacto com o agente atingem geralmente títulos baixos e poderão demorar mais de 40 dias após o estabelecimento da infecção até serem detectados (Gaskell et al., 2007; Thiry et al., 2009). De um modo geral, a resposta imunitária do hospedeiro protege o animal contra o aparecimento de sintomatologia clínica, mas não impede o estabelecimento da infecção, tendo sido observada a presença de sinais clínicos moderados por reinfeção, cerca de 150 dias após a infecção primária (Thiry et al., 2009).

6.4 Sinais clínicos e fases de infecção

O período de incubação é, em média, de dois a seis dias, podendo contudo variar consoante a carga viral infectante (Gaskell & Povey, 1979; Murphy et al., 1999; Gaskell et al., 2007; Grace, 2011b). A gravidade dos sinais clínicos difere entres os animais infectados, o que poderá, em parte, ser explicado pela variação significativa do grau de virulência das diferentes estirpes (Thiry et al., 2009; Gould, 2011).

A replicação viral aguda no epitélio conjuntival e do trato respiratório resulta em necrose com infiltração neutrofílica e inflamação, enquanto que as alterações associadas à infecção crônica são sobretudo oculares, e poderão ter uma componente imuno-mediada (Grace, 2011b).

A erosão das mucosas com ulceração, rinite e conjuntivite são os sinais comuns da infecção aguda. Ocasionalmente, poderão também ser observadas úlceras dendríticas ao nível da córnea, que são consideradas patognomónicas (Murphy et al., 1999; Maggs, 2005; Gaskell et al., 2007; Sila & Davidson, 2011). É, contudo, importante realçar que nem sempre todas as camadas da córnea são destruídas, pelo que a aplicação de fluoresceína poderá falhar na revelação da úlcera se o estroma hidrofílico não estiver exposto (Maggs, 2005). Em alternativa poder-se-á recorrer à aplicação de rosa bengala para coloração de tecido epitelial desvitalizado (Maggs, 2005).

Outros sinais típicos da infecção por FHV-1 incluem febre, depressão, anorexia, corrimento nasal e/ou ocular (que poderá ser seroso, purulento ou sanguinolento), simbléfaro, espirros e, embora menos frequente, salivação e tosse (Hoover et al., 1970; Stiles et al., 1997b; Murphy et al., 1999; Stiles, 2003; Maggs, 2005; Gaskell et al., 2007; Thiry et al., 2009; Grace, 2011b; Reinstein & Davidson, 2011).

O desenvolvimento de pneumonia primária com grave manifestação de sinais generalizados pode ocorrer, sobretudo nos animais jovens mais susceptíveis, e culmina, por vezes, na morte do animal (Murphy et al., 1999; Stiles, 2003; Gaskell et al., 2007; Thiry et al., 2009; Grace, 2011b).

Mais raramente, poder-se-ão observar alterações cutâneas, como ulceração e dermatite, e alterações neurológicas (Hargis & Ginn, 1999; Hargis, Ginn, Mansell & Garber, 1999; Murphy et al., 1999; Thiry et al., 2009; Rees, 2011).

Na fase aguda, poderá haver osteólise com destruição óssea permanente, nomeadamente dos turbinados nasais, devido a inflamação e remodelação locais, e que é por vezes complicada por infecção bacteriana secundária (Hoover, et al., 1970; Gaskell et al., 2007; Thiry et al., 2009). Esta alteração dos turbinados é um factor predisponente para o desenvolvimento de rinosinusite crónica (Maggs, 2005; Thiry et al., 2009). Neste caso, não há replicação viral, o que sugere que a rinosinusite é despoletada pelo FHV-1 mas perpetuada por mecanismos auto-imunes (Thiry et al., 2009).

Com excepção da destruição dos turbinados nasais que é permanente, as lesões resolvem-se geralmente em duas a três semanas (Gaskell et al., 2007).

Durante os períodos de recrudescência, alguns animais poderão desenvolver doença ocular crónica imuno-mediada. A nível experimental, parece haver evidências de que queratite do estroma com infiltração linfocitocitária, edema da córnea, neovascularização, fibrose e eventualmente cegueira, poderão resultar da infecção (Nasisse, English, Tompkins, Guy & Sussman, 1995; Nasisse, Glover, Moore & Weigler, 1998; Stiles, 2003; Maggs, 2005;

Volopich et al., 2005; Thiry et al., 2009; Grace, 2011b). A úlceração da córnea, por vezes associada a conjuntivite, poderá resultar em sequestro crónico da córnea (Nasisse et al., 1998; Stiles, 2003; Maggs, 2005; Thiry et al., 2009; Grace, 2011b).

6.5 Diagnóstico

O diagnóstico da infecção baseia-se essencialmente na detecção do FHV-1 no material biológico colhido, uma vez que a presença de Ac's não é necessariamente indicativa de infecção activa, e a histopatologia, apesar de ser um método eficaz, é pouco utilizada por rotina, pois requer a colheita de tecido por biópsia, o que muitas vezes só é possível *post-mortem*.

6.5.1 Detecção de antígeno

Tal como referido, a excreção viral inicia-se nas 24 horas após a infecção e pode durar até três semanas. Durante este período, o FHV-1 poderá ser detectado em zaragatoas nasais, orofaríngeas ou oculares, assim como sangue, humor aquoso ou outros tecidos de animais suspeitos. A detecção pode ser feita por isolamento viral em cultura de células, PCR ou imunofluorescência (Hoover, et al., 1970; Stiles et al., 1997b; Weigler, Babineau, Sherry & Nasisse, 1997b; Vogtlin et al., 2002; Maggs, 2005; Gaskell et al., 2007; Grace, 2011b).

A ocorrência de falsos negativos poderá estar relacionada com má técnica de colheita da amostra, degradação do ADN viral durante o transporte da amostra, colheita durante o período de latência ou baixa carga viral, e ainda baixa sensibilidade do meio de diagnóstico escolhido (Gould, 2011).

O isolamento viral é considerado o *gold standard* no diagnóstico de alphaherpesvírus devido à rapidez com que se observa o efeito citopático característico do vírus. É, contudo, um método pouco usado pois, para além de ser menos sensível que o PCR, existem dificuldades logísticas no transporte e processamento das amostras (Reubel et al., 1993; Sykes, Browning, Anderson, Studdert & Smith, 1997; Maggs, 2005; Grace, 2011b).

No PCR, método preferencial de diagnóstico, o vírus poderá ser detectado mesmo em casos de baixo nível de excreção viral. No entanto, também poderão ser obtidos resultados positivos após vacinação ou pela detecção de ADN sem no entanto haver doença clínica subjacente. Como tal, os resultados obtidos deverão ser sempre avaliados em consonância com a história clínica do animal em questão (Thiry et al., 2009; Grace, 2011b). Alguns estudos demonstraram que o diagnóstico por PCR, principalmente o *nested* e o PCR em tempo real, é mais sensível que o isolamento viral e a imunofluorescência na detecção de FHV-1 em animais com conjuntivite (Stiles, McDermott, Willis, Roberts & Greene, 1997a; Burgesser et al., 1999; Mira, 2010).

A imunofluorescência poderá ser utilizada, em particular, para detecção de FHV-1 em secreções conjuntivais (Carlson & Scott, 1978; Maggs, 2005; Gaskell et al., 2007).

6.5.2 Detecção de anticorpo

A desvantagem dos métodos serológicos é que estes não distinguem a infecção activa dos Ac's vacinais, pelo que dão apenas informação acerca do estatuto vacinal do animal (Maggs, 2005; Maggs & Clarke, 2005; Grace, 2011b).

O ELISA pode ser utilizado para detecção de Imunoglobulinas (Ig) G no humor aquoso e líquido cefalorraquidiano de animais com inflamação do Sistema Nervoso Central (SNC) ou alterações oculares.

6.5.3 Meios complementares de diagnóstico

Na hematologia poderá verificar-se leucocitose, neutrofilia e linfopénia (Hoover, et al., 1970). Por exame histopatológico poderão ser observados corpos de inclusão nos eosinófilos, associados à necrose focal do epitélio da conjuntiva, tonsilas, laringe, traqueia e ocasionalmente, brônquios e bronquíolos, ocorrência que é típica da infecção por herpesvírus, sobretudo em animais que sucumbem sete a nove dias após a infecção (Hoover et al., 1970; Hargis & Ginn, 1999; Hargis et al., 1999; Murphy et al., 1999; Quinn et al., 2002c; Lee, Bosward & Norris, 2010).

6.6 Tratamento

6.6.1 Tratamento de suporte

A administração de antibióticos de largo espectro justifica-se no sentido de evitar infecções bacterianas secundárias, nos casos de doença respiratória superior aguda e em animais com manifestações oculares (Stiles, 2003; Gaskell et al., 2007; Thiry et al., 2009; Grace, 2011b). Em casos de sinais ligeiros a moderados, a amoxicilina ou a amoxicilina-ácido clavulânico serão uma boa escolha (Grace, 2011b). Em casos mais severos, a azitromicina ou amoxicilina/ácido clavulânico associado a marbofloxacin é indicado para animais não hospitalizados. Já para animais internados a escolha recai na amoxicilina associada a enrofloxacin (Grace, 2011b). Para aplicação oftálmica tópica, a gentamicina, tetraciclina e neomicina poderão ser opção, com a possibilidade de ocorrer uma reacção de sensibilização aos dois últimos compostos, cuja administração deverá ser descontinuada caso a conjuntivite se agrave (Stiles, 2003; Grace, 2011b; Sila & Davidson, 2011). Qualquer que seja a terapêutica escolhida, os animais deverão ser reexaminados a cada quatro a cinco dias e, se necessário, deverá ser efectuada uma cultura microbiológica da lesão, com posterior teste de sensibilidade a antibióticos (Gaskell et al., 2007).

A lactoferrina bovina demonstrou alguma actividade *in vitro* na prevenção da adesão e penetração do FHV-1 em células susceptíveis, mas a sua eficácia *in vivo* não foi ainda estudada (Beaumont, Maggs & Clarke, 2003; Maggs, 2005). Apesar de os gatos excretarem este composto nas secreções lacrimais, a sua concentração diminuí significativamente em

animais com queratite e/ou conjuntivite (Maggs, 2005). Um estudo de Maggs & Clarke (2004) demonstrou que há uma potente sinergia entre a lactoferrina e o cidofovir.

Os animais deverão ser encorajados a alimentar-se o que poderá justificar a oferta de um alimento altamente palatável, de odor forte e aquecido, e caso o animal demonstre dificuldade na preensão/mastigação dos alimentos, deverá ser facultada uma alimentação mais apropriada, como a comida para bebés (Gaskell et al., 2007; Thiry et al., 2009; Grace, 2011b). Os estimulantes de apetite como ciproheptadina poderão auxiliar nessa tarefa (Thiry et al., 2009). Em casos mais severos em que a anorexia se prolongue por mais de três dias, o animal deverá ser hospitalizado e colocada uma sonda de alimentação nasogástrica (contra-indicado em caso de dispneia, depressão grave, congestão ou irritação nasal), devendo ter-se o cuidado de desobstruir as vias aéreas antes de iniciar a alimentação (Gaskell et al., 2007; Thiry et al., 2009; Grace, 2011b). Os descongestionantes nasais, como fenilefrina ou cloridrato de oximetazolina, poderão ser úteis na fase aguda da infecção, assim como os agentes mucolíticos, como a bromexina, na fase crónica (Gaskell et al., 2007; Thiry et al., 2009). Em alternativa poder-se-á recorrer a vapores com solução salina (Gaskell et al., 2007; Thiry et al., 2009).

A hidratação e o balanço electrolítico deverão ser garantidos através da administração endovenosa (IV) ou SC de fluidos (Thiry et al., 2009; Grace, 2011b).

A resolução do simbléfaro deverá passar por desbridamento das adesões, que, em caso de conjuntivite grave, deverá ser efectuado diariamente, de modo a evitar recidivas (Stiles, 2003). Gatos com sequestro por úlcera da córnea deverão ser submetidos a tratamento cirúrgico com queratectomia (Stiles, 2003).

A aplicação de AIE's é contra-indicada em caso de ulceração da córnea e a dor deverá ser controlada através da aplicação de atropina tópica (Crispin, 2005; Grace, 2011b; Sila & Davidson, 2011).

6.6.2 Tratamento antiviral

Os análogos nucleósidos inibem a replicação viral ao integrarem o genoma viral durante este fenómeno, criando assim um “falso” ADN, pelo que são considerados agentes virostáticos (Maggs, 2005). Estes compostos têm geralmente boa actuação contra os herpesvírus humanos mas até ao momento, nenhum antiviral foi desenvolvido especificamente para gatos, e portanto, para o FHV-1 (Gaskell et al., 2007; Maggs, 2010). Uma vez que o vírus reside no interior das células e utiliza os organelos intracelulares, os compostos antivirais (anexo 7) são geralmente tóxicos para o hospedeiro, o que limita significativamente a sua administração sistémica mas, raramente, a aplicação tópica (Maggs, 2005; Maggs, 2010). A utilização destes compostos não deverá nunca substituir a administração de antibióticos quando uma infecção bacteriana secundária estiver patente (Maggs, 2005; Grace, 2011b; Sila & Davidson, 2011). A *compliance* por parte dos donos é

geralmente difícil obter, pois qualquer que seja o fármaco escolhido, o animal deverá ser avaliado a cada uma a duas semanas, e o fármaco deverá ser, idealmente, aplicado a cada uma a duas horas, durante pelo menos uma semana após cessarem os sinais clínicos (Maggs, 2005; Grace, 2011b; Sila & Davidson, 2011).

Estudos *in vitro* demonstraram que o FHV-1 é susceptível ao IFN- ω felino e ao IFN- α , em particular na fase aguda de infecção, e que a associação do aciclovir com o IFN- α terá um efeito sinérgico (Fulton & Burge, 1985; Weiss, 1989; Stiles, 2003; Maggs, 2005; Sandmeyer, Keller & Bienzle, 2005b). Uma vez que os interferões são proteínas, a administração *per os* (PO) leva à sua degradação pelas enzimas gástricas, não sendo assim absorvidos (Cantell & Pyhala, 1973). Apesar de não haver estudos controlados sobre a eficácia destes compostos, a maioria dos autores afirma que o IFN poderá ser útil no tratamento de animais com infecção respiratória aguda ou alterações oculares por FHV-1, uma vez que reduz os sinais clínicos associados a estas doenças, apesar de não impedir a excreção viral (Stiles, 2003; Maggs, 2005; Gaskell et al., 2007; Grace, 2011b).

Foi demonstrado que a arginina é essencial na replicação tanto do herpesvírus felino como do humano, pelo que a lisina, como antagonista da arginina, diminuí a síntese viral *in vitro*, o que, contudo, só ocorre em baixas concentrações de arginina (Tankersley, 1964; Maggs et al., 2003; Stiles, 2003; Maggs, 2005; Gaskell et al., 2007; Maggs, 2010; Gould, 2011). Em humanos, a suplementação oral de lisina diminuiu a sintomatologia decorrente da infecção por herpesvirus, mas, nos felinos, a arginina é um aminoácido essencial, pelo que a sua restrição alimentar com o intuito de aumentar a eficácia da lisina não é viável (Gould, 2011). Por outro lado, a nível experimental obtiveram-se resultados divergentes no que respeita a suplementação com lisina em gatos. Nalguns estudos observou-se que, quando a lisina é administrada antes de se estabelecer a infecção, há diminuição da gravidade da conjuntivite, da excreção viral e do número de episódios associados à reactivação da infecção latente (Maggs et al., 2003; Stiles, 2003). Noutros estudos, a terapêutica com lisina foi associada ao agravamento dos sinais clínicos e aumento da detecção do ADN viral ao nível da orofaringe e conjuntiva ocular (Maggs et al., 2007; Rees & Lubinski, 2008; Drazenovich et al., 2009; Grace, 2011b). Por outro lado, num estudo de Maggs et al. (2007) observou-se que a suplementação com este composto diminuiu a ingestão de alimento por parte dos animais tratados. Será também importante realçar que a administração diária de lisina na forma de bolus poderá aumentar os níveis de stress no animal, o que seria contraproducente, no sentido em que o stress é um factor de reactivação da excreção viral de FHV-1 (Maggs, 2010). Por outro lado, outros estudos de Maggs et al. (2007) demonstraram que a suplementação deste composto na alimentação usual do animal poderá levar a uma diminuição da ingestão de alimento e, logo, de lisina, pelo que Maggs (2010) sugere que, no caso de animais que pertençam a particulares, a lisina seja administrada em bolus, seguida da ingestão de alimento, de modo a evitar alterações a nível gástrico (Stiles, Townsend,

Rogers & Krohne, 2002; Stiles, 2003). A suplementação de lisina deverá ser acompanhada de monitorização dos níveis plasmáticos de arginina pois estes aminoácidos competem na sua absorção (Grace, 2011b).

6.7 Prevenção

A infecção por FHV-1, mais do que mortal, é uma doença de elevada morbilidade, pelo que algumas medidas de controlo na disseminação do vírus serão necessárias, no sentido de preservar a qualidade de vida dos animais.

6.7.1 Maneio geral

De modo a evitar a reactivação da excreção viral, as situações de stress, como o contacto com animais ou indivíduos desconhecidos ou a mudança de ambiente ou de alimento, deverão ser evitadas (Sila & Davidson, 2011).

A entrada de novos animais em estabelecimentos de acolhimento deverá ser precedida de um período de quarentena de, pelo menos, duas semanas (Thiry et al., 2009). Em centros de reprodução, as fêmeas deverão parir em isolamento, e as crias não deverão entrar em contacto com outros felinos até serem vacinadas (Thiry et al., 2009).

A limpeza de instalações é essencial na prevenção da infecção, sendo que o FHV-1 é sensível à maioria dos antissépticos, detergentes e desinfectantes. Este vírus é inactivado a 37°C durante três horas, ou cinco minutos a 56°C (Scott, 1980; Eleraky, Potgieter & Kennedy, 2002; Thiry et al., 2009; Gould, 2011). A 4°C mantém a sua capacidade infecciosa durante cinco meses e um mês a 25°C (Thiry et al., 2009). Em ambientes húmidos pode persistir até dezoito horas, e é relativamente instável na forma de aerosol (Gaskell et al., 2007; Gould, 2011).

6.7.2 Vacinação

Estão disponíveis vários tipos de vacinas contra FHV-1, e são sempre associadas às vacinas para FCV (Gaskell et al., 2007). Podem ser vacinas vivas modificadas ou inactivadas com adjuvante e são administradas por via parentérica (Murphy et al., 1999; Gaskell et al., 2007; Grace, 2011b), sendo que, em alguns países, está também disponível uma vacina viva modificada para administração intranasal (Gaskell et al., 2007). Nenhuma das vacinas parece, contudo, proteger o animal da infecção, nem de se tornar portador, mas parecem diminuir a excreção e o título viral no período de latência, e controlar a reactivação do vírus em estado de latência (Orr, Gaskell & Gaskell, 1978; Orr, Gaskell & Gaskell, 1980; Cocker et al., 1986; Weigler et al., 1997a; Gaskell & Willoughby, 1999; Murphy et al., 1999; Lappin, Sebring, Porter, Radecki & Veir, 2006).

A vacina produzida para administração intranasal, apesar de induzir o aparecimento de alguns sinais clínicos como espirro crónico, é a escolha indicada quando se pretende obter

um título de Ac's satisfatório mais rapidamente, sendo que, dois dias após administração o animal já está parcialmente protegido, e em quatro a seis dias a protecção é já significativa (Cocker et al., 1986; Lappin et al., 2006; Gaskell et al., 2007; Grace, 2011b).

Os gatos infectados por FIV ou FeLV assintomáticos, com doença crónica estabilizada (como hipertiroidismo e IRC) e as fêmeas gestantes deverão ser vacinados, preferencialmente com vacinas inactivadas (Gaskell et al., 2007; Thiry et al., 2009).

O pano de vacinação recomendado para o FHV-1 está disponível no anexo 6.

6.8 Prognóstico

O prognóstico é variável pois o FHV-1 induz uma grande variedade de alterações clínicas (Grace, 2011b). A maioria dos animais recupera completamente da infecção aguda, sendo que a morte resulta, geralmente, de anorexia e desidratação prolongadas, ou infecções bacterianas secundárias não tratadas (Grace, 2011b).

7 CANDIDA SPP.

7.1 Biologia

O nome *Candida* foi proposto por Roth Berkhout em 1923 (Willey e tal., 2008). As leveduras do género *Candida* são células eucariotas, unicelulares, com forma arredondada ou oval (Quinn, Markey, Donnely & Leonard, 2002d; Biberstein, 2003), e pertencem à família *Cryptococcaceae* da divisão *Ascomycota* (Chermette & Bussiéras, 1993; van Cutsem & Rochette, 1993; Greene & Chandler, 2006). São organismos aeróbios estritos e possuem uma parede celular constituída por glicoproteínas (glicanas e mananas), lípidos e quitina (Biberstein, 2003; Willey, Sherwood & Woolverton, 2008).

As *Candida* spp. reproduzem-se assexuadamente, e é durante este fenómeno que, consoante a espécie, ocorre a formação de blastoconídias e hifas ou pseudohifas (van der Walt & Yarrow, 1984; Quinn et al., 2002a).

Existem mais de 200 espécies do género *Candida* capazes de infectar uma vasta gama de hospedeiros, e o primeiro caso de candidíase sistémica foi documentado por Albert Zenker em 1861 (Quinn et al., 2002a; Willey e tal., 2008).

7.2 Epidemiologia

7.2.1 Distribuição e prevalências

Apesar da distribuição mundial (Carter & Chengappa, 1993 Quinn, Carter, Markey & Carter, 1999), a candidíase é uma doença pouco frequente em animais, sendo que, no entanto, se tem vindo a observar um aumento crescente do número casos de infecções por *Candida*

spp., em particular por *C. albicans* (Carter & Chengappa, 1993; Sierra, Guillot, Jacob, Bussi  ras & Chermette, 2000; Duarte, Resende, Rosa & Hamdan, 2001; Pressler, Vaden, Lane, Cowgill & Dye, 2003; Linek, 2004; Moretti et al., 2004; Fulleringer et al., 2006; Kuwamura, Ide, Yamate, Shiraishi & Kotani, 2006; Kivaria & Noordhuizen, 2007).

As espécies mais isoladas em humanos são *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. krusei* e *C. rugosa* (Gudlaugsson et al., 2003; Colombo et al., 2006, 2007; Trofa, G  cser & Nosanchuk, 2008; Lim, Rosli, Seow & Chong, 2011).

7.2.2 Transmissão

A transmissão ocorre por via oral e, embora menos comumente, por inalação da levedura (Chermette & Bussi  ras, 1993).

As candidas são agentes nosocomiais importantes, tendo sido consideradas o quarto agente etiológico mais comum em infecções sanguíneas, representando, em alguns hospitais, quase 10% deste tipo de infecções (Calderone, 2002; Douglas, 2003; Greene & Chandler, 2006; Willey e tal., 2008). O transplante de órgãos e colocação de próteses têm sido associados à disseminação mundial de *Candida* spp. (Douglas, 2003; Willey e tal., 2008).

Apesar de estarem descritas infecções pelos mesmos agentes, e da semelhança nos sinais clínicos apresentados, a transmissão de *Candida* spp. entre o Homem e os animais domésticos não está descrita (Ajello, 1968; Chermette & Bussi  ras, 1993).

7.3 Patogenia da infecção

As candidas vivem em equilíbrio com o sistema imunitário do hospedeiro, sendo o seu crescimento inibido por outros organismos comensais e por mecanismos de resistência do indivíduo, em que tanto a resposta celular como a humoral parecem ter um papel preponderante contra a disseminação do agente (Quinn et al., 2002a; Greene & Chandler, 2006; Willey e tal., 2008). Assim, a presença de leveduras do género *Candida* apenas se manifesta clinicamente em jovens ou idosos com sistema imunitário débil, em indivíduos com imunossupressão, desequilíbrios hormonais ou endócrinos, sujeitos a terapia prolongada com antibióticos, AIE's ou anti-tumorais, e fêmeas gestantes (Ajello, 1968; Carter & Chengappa, 1993; Chermette & Bussi  ras, 1993; Román et al., 1998; Quinn et al., 1999; Calderone, 2002; Quinn et al., 2002a; Biberstein, 2003; Douglas, 2003; Pressler et al., 2003; Greene & Chandler, 2006; Willey e tal., 2008).

Uma vez que os recém-nascidos não possuem uma microbiota estabelecida ao nível da orofaringe, estes poderão desenvolver candidíase nas vias respiratórias superiores e no trato gastrointestinal, caso o canal vaginal da mãe esteja altamente contaminado (Ajello, 1968; Greene & Chandler, 2006; Trofa et al., 2008; Willey e tal., 2008).

Estas leveduras possuem vários factores de virulência, nomeadamente, a adesão, secreção de proteinases, formação de hifas/pseudohifas, alterações fenotípicas, adaptação a

condições ambientais adversas (alteração do pH, da concentração de oxigênio e da disponibilidade de nutrientes no meio ambiente) e capacidade de co-existência com bactérias (Yang, 2003; Sardi et al., 2010; Williams & Lewis, 2011). Alguns dos seus Ag's, com destaque para as mananas, induzem imunossupressão no hospedeiro, o que facilita a sua persistência a nível intracelular (Chermette & Bussi ras, 1993; Greene & Chandler, 2006).

Por serem aeróbios estritos, estas leveduras são organismos comensais das mucosas, sendo que o crescimento ocorre, essencialmente, quando estas se encontram manifestamente húmidas ou danificadas, sendo esta proliferação fúngica, o primeiro passo na propagação da infecção (van Cutsem & Rochette, 1993; Greene & Chandler, 2006; Biberstein, 2003; Willey e tal., 2008).

As hifas, ao entrarem na corrente sanguínea, aderem de imediato às plaquetas em circulação, reduzindo, assim, a sua "visibilidade" perante o sistema imunitário do hospedeiro, o que facilita a sua disseminação (Greene & Chandler, 2006). Supõe-se que a entrada na corrente sanguínea também se possa fazer através de lesões esofágicas, da aplicação de catéteres, da terapia intravenosa e da cirurgia cardíaca (Baker, 1968; Chermette & Bussi ras, 1993; Cassone et al., 1995; Calderone, 2002).

As candidas, em particular *C. albicans* e *C. glabrata*, pertencem à microbiota da vagina, boca, trato gastrointestinal e respiratório (Ajello, 1968; Carter & Chengappa, 1993; van Cutsem & Rochette, 1993; Román, Cancio, Pican & Guardoqui 1998; Quinn et al., 1999; Sierra et al., 2000; Quinn et al., 2002a; Biberstein, 2003; Willey e tal., 2008).

Na candidíase sist mica, a microcirculação ao nível dos pulmões, pele, fígado, cérebro, olhos, discos intervertebrais e tecido muscular, elimina o agente do sangue, o que resulta na formação de microabcessos e embolias nos tecidos em questão (Greene & Chandler, 2006). A infecção do coração, rins, placenta e pele é pouco frequente (Carter & Chengappa, 1993; Sierra et al., 2000).

Estima-se que a taxa de mortalidade por infecções por *Candida* spp. seja cerca de 35% (Wenzel, 1995 citado por Calderone, 2002).

7.4 Sinais clínicos

As manifestações clínicas da infecção por *Candida* spp. variam de acordo com o estatuto imunológico do paciente, podendo ser locais ou sist micas (Kuwamura et al., 2006; Ramos-e-Silva, Lima, Schechtman, Trope & Carneiro, 2010).

Podem, eventualmente, desenvolver-se infecções respiratórias ou intestinais, abcessos ao nível dos órgãos internos, ou até septic mias (Biberstein, 2003). A presença de *C. albicans* como agente etiológico de piot rax foi já descrita em felinos (McCaw, Franklin, Fales, Stockham & Lattimer, 1984; Quinn et al., 1999; Biberstein, 2003).

A presença de *C. albicans* e *C. parapsilosis* foi já associada a algumas infecções do trato urinário em cães e gatos com imunossupressão, alterações urinárias (glucosúria, diluição da urina, alteração de pH, infecção bacteriana, urolitíase, neoplasia e estase), ou sujeitos a cistotomia ou a cateterização vesical (Heseltine, Panciera & Saunders, 2003; Pressler et al., 2003; Greene & Chandler, 2006).

A nível cutâneo, foram observadas lesões multifocais com alopecia, descamação, crostas e úlceras, assim como otite externa crónica com eritema, exsudação e prurido (Moretti et al., 2004; Greene & Chandler, 2006).

Estão ainda descritas alterações variadas a nível ocular e da cavidade oral (Carter & Chengappa, 1993; Gerding, Morton & Dye, 1994; Román et al., 1998).

Já as lesões do tipo granulomatosas são raras (Baker, 1968; Quinn et al., 1999; Biberstein, 2003).

7.5 Diagnóstico

A pesquisa de Ag's fúngicos (mananas, enolase) ou de Ac's pode ser útil mas a interpretação de resultados é, por vezes, complexa (Chermette & Bussiêras, 1993).

7.5.1 Detecção de antígeno

O diagnóstico da infecção poderá ser feito através da realização de um PCR com *primers* específicos para o ADN de *Candida* spp. em amostras de sangue, urina, tecidos e culturas de microrganismos, mas as provas para detecção de Ag's e metabolitos em circulação, não foram adequadamente avaliadas em medicina veterinária (Biberstein, 2003; Greene & Chandler, 2006; Silva et al., 2011). Por outro lado, sabe-se que no diagnóstico por PCR poderão ocorrer falsos-positivos por reacção cruzada com contaminantes (Brito et al., 2009).

7.5.2 Detecção de anticorpo

A identificação das espécies de *Candida* spp. por imunofluorescência é extremamente difícil com esta metodologia (Silva et al., 2011).

7.5.3 Citologia

A observação microscópica de esfregaços, por aposição ou de aspiração de lesões, ou de sedimento urinário, poderá revelar a presença de *Candida* spp. (Greene & Chandler, 2006).

7.5.4 Cultura em meio selectivo

Para o isolamento de leveduras podem-se utilizar meios de cultura selectivos, como por exemplo o agár BIGGY, em que, ao contrário das leveduras do género *Candida*, a maioria das bactérias e fungos são inibidos pela presença de sulfito de bismuto (van Cutsem &

Rochette, 1993). Apesar de menos frequente, poderá também haver crescimento de algumas enterobactérias e fungos neste meio (van Cutsem & Rochette, 1993).

Os meios de cultura, como o *Sabouraud*, podem também ser adicionados de antibióticos, como cicloheximida (ao contrário de *C. albicans*, algumas espécies de *Candida* podem ser inibidas por este composto) ou cloranfenicol (Chermette & Bussi ras, 1993; van Cutsem & Rochette, 1993; Quinn et al., 1999).

As espécies capazes de invadir mucosas, sangue e fezes apresentam um bom crescimento a 37 C, enquanto que as espécies colonizadoras da pele desenvolvem-se preferencialmente a 27 C (Chermette & Bussi ras, 1993; Quinn et al., 2002a; Greene & Chandler, 2006).

7.5.4.1 Aspecto macroscópico

Após 24 a 48 horas de incub  o, a maioria das col nias de *Candida* spp. apresenta-se com 4-5 mm de diâmetro, cor branca ou creme, convexa, brilhante e com textura suave e lisa, sendo que o número de col nias formadas   concordante com a gravidade da infecção (Chermette & Bussi ras, 1993; van Cutsem & Rochette, 1993; Quinn et al., 1999; Quinn et al., 2002a).

7.5.4.2 Aspecto microscópico

Para coloração das col nias isoladas de *Candida* spp. pode-se recorrer aos métodos do ácido per dico de *Schiff* (PAS), metenamina de prata de *Gomori* (GMS), hematoxilina-eosina, azul de algodão, entre outras, sendo que, no entanto, esta levedura é habitualmente estudada em culturas n  coradas (Symmers, 1968; Biberstein, 2003). Para observação do organismo em tecidos ou exsudados, dever-se-  utilizar colorações policromáticas, como *Wright* ou *Giemsa* (Biberstein, 2003).

Ao microscópio óptico as candidas apresentam-se como células redondas de parede delgada, com g mulas e diâmetro de (2-4) x (7-14)  m (Chermette & Bussi ras, 1993; van Cutsem & Rochette, 1993; Greene & Chandler, 2006). Em culturas mais antigas poder-se-ão encontrar hifas ou pseudohifas, que podem atingir dimensões de (500-600) x (3-5)  m, que d o origem ao pseudomicélio (Chermette & Bussi ras, 1993; van Cutsem & Rochette, 1993; Biberstein, 2003). As condições de temperatura, pH, nutrição e atmosfera, necessárias ao aparecimento de pseudomicélio são ainda controversas, mas sabe-se que o seu crescimento *in vivo* está associado   proliferação activa e invasividade por parte do fungo (Biberstein, 2003). O desenvolvimento de clamidosporos com 10-20  m de diâmetro   específico de *C. albicans* (Chermette & Bussi ras, 1993).

7.5.5 Identificação

Para distinguir os vários tipos de *Candida* spp. utilizam-se provas fisiológicas e bioquímicas, sendo que as provas de ureia e os testes de fermentação de carboidratos (zimograma), de

assimilação de nitrogénio e carboidratos (auxonograma) e do tubo germinativo, são a base da identificação das espécies (van Cutsem & Rochette, 1993; Quinn et al., 2002a; Biberstein, 2003; Brito et al., 2009). Estão comercialmente disponíveis kits de testes bioquímicos, com os quais se obtêm resultados em 24 a 72 horas (Quinn et al., 1999; Quinn et al., 2002a).

7.5.6 Meios complementares de diagnóstico

7.5.6.1 Hematologia

As respostas inflamatórias são predominantemente neutrofílicas, com intervenção de polimorfonucleares neutrófilos (PMN) e macrófagos activados (Chermette & Bussi ras, 1993; Quinn et al., 1999; Biberstein, 2003). Na infecção sist mica poder-se-  observar leucopénia e trombocitopénia (Greene & Chandler, 2006).

7.6 Tratamento

A correcção das condições subjacentes   candidíase pode, *per si*, resultar em recuperação clínica (Román et al., 1998; Biberstein, 2003).

A alcalinização da cavidade bucal poderá ajudar na recuperação de candidíase oral, e a suplementação vitamínica, em paralelo com uma alimentação rica em proteínas, poderá favorecer a reparação tecidular (Chermette & Bussi ras, 1993; Román et al., 1998).

São vários os compostos capazes de debelar a infecção por *Candida* spp. (anexo 8), sendo, contudo, recomendável uma avaliação prévia da sensibilidade da espécie em questão (Drouhet, 1968; Carter & Chengappa, 1993; Chermette & Bussi ras, 1993; Román et al., 1998; García-Martos et al., 2001; Biberstein, 2003; Gudlaugsson et al., 2003; Brito et al., 2006; Messer, Jones & Fritsche, 2006; Colombo et al., 2007; Costa-de-Oliveira, Pina-Vaz, Mendonça & Rodrigues, 2008; Willey et al., 2008; Brito et al., 2009; Foy & Trepanier, 2010; Ramos-e-Silva et al., 2010; Pfaller et al., 2011).

Um estudo de Force & Nahata (1995) demonstrou que o fluconazol atinge concentrações mais elevadas que cetoconazol a nível da saliva, daí que seja mais eficiente no tratamento de candidíase da cavidade oral e es fago. Por outro lado, os triazóis fluconazol e itraconazol induzem menor toxicidade, menor interacção com o citocromo p450 e menor inibição da síntese de corticost roides, que o cetoconazol (Como & Dismukes, 1994; Hoepelman & Dupont, 1996).

A diminuição da eficácia dos derivados azólicos administrados sistemicamente pode ser atribuída à diminuição da absorção devido ao baixo pH do estômago (cetoconazol e itraconazol), a interacções com outras substâncias que aumentem o metabolismo, como a rifampicina (fluconazol, cetoconazol e itraconazol) (Hoepelman & Dupont, 1996).

Estão ainda descritos outros compostos passíveis de serem utilizados na terapêutica de alterações cutâneas associadas a *Candida* spp. como caprilato de sódio, propionato de sódio, violeta de genciana a 1%, permanganato de potássio a 2% e clorexidina a 0,2%.

7.7 Prevenção

Considerando o papel preponderante de *Candida* spp. nas infecções nosocomiais e a sua presença assintomática nas mãos de profissionais de saúde saudáveis, a prática de métodos de higiene eficazes são determinantes no controlo da disseminação deste agente.

As leveduras do género *Candida* são destruídas a temperaturas superiores a 50°C, por luz ultravioleta, ou aplicação de cloro e desinfectantes como o amónio (Biberstein, 2003).

Actualmente, não existem vacinas capazes de conferir protecção contra nenhum género de *Candida* (Biberstein, 2003).

7.8 *Candida parapsilosis*

7.8.1 Epidemiologia

O nome desta espécie foi atribuído por Langeron & Talice em 1932 (Meyer, Ahearn & Yarrow, 1984; Nosek, Holesova, Kosa, Gacser, & Tomaska, 2009) e foi isolada pela primeira vez em humanos em Puerto Rico, nas fezes de um paciente com diarreia (Nosek et al., 2009). As infecções por esta espécie foram também documentadas em mamíferos e aves, tendo ainda sido isolada em insectos (van Cutsem & Rochette, 1993; Suh, Nguyen & Blackwell, 2007).

Com distribuição mundial, esta levedura é frequentemente isolada em material biológico como pele, unhas, saliva, fezes, urina e sangue (Greene & Chandler, 2006; Trofa et al., 2008; Nosek et al., 2009; Martins et al., 2010). Foi constatado em vários estudos que a *C. parapsilosis* foi a segunda espécie mais isolada, geralmente precedida por *C. albicans* (Rodero et al., 2005; Brito et al., 2006; Messer et al., 2006; Colombo et al., 2007; Costa-de-Oliveira et al., 2008).

Num estudo de Bonassoli, Bertoli & Svidzinski (2005) testou-se a amostra populacional microbiana fúngica das mãos de 86 indivíduos, sendo que 59,3% estavam contaminados com fungos, dos quais em 51% dos casos foi isolada *C. parapsilosis*. Num outro estudo de Tamura, Negri, Bonassoli & Svidzinski (2007), também em ambiente hospitalar, 26% dos casos de contaminação de cateteres venosos centrais e nas mãos dos trabalhadores eram por *C. parapsilosis*.

Assim, a transmissão ocorre essencialmente por via horizontal, através de material médico (sobretudo próteses e cateteres), fluidos de alimentação parentérica e contacto com trabalhadores da área da saúde cujas mãos estejam contaminadas (Clark et al., 2004; Trofa et al., 2008).

Estudos experimentais demonstraram que a *C. parapsilosis* é menos virulenta que a *C. albicans* e a *C. tropicalis* (Weems Jr. et al., 1992; Trofa et al., 2008), apresentando uma taxa de mortalidade entre 4% a 45% (Kossoff, Buescher & Karlowicz, 1998; Brito et al., 2006).

7.8.2 Sinais clínicos

Há semelhança de outros géneros de *Candida*, a *C. parapsilosis* foi já associada a infecções nosocomiais em neonatos, indivíduos transplantados, imunossuprimidos e sujeitos a nutrição parentérica (Weems Jr. et al., 1992; Chermette & Bussi ras, 1993; Trofa et al., 2008; Nosek et al., 2009).

Esta espécie foi também associada a alterações do tracto urinário, em animais com diabetes mellitus, hiperadrenocorticismo e algaliados, e é considerada um agente comensal da mucosa vaginal em cadelas (Cleff et al., 2005; Greene & Chandler, 2006).

7.8.3 Diagnóstico

Após três dias de incubaa o em água peptonada com extracto levedura e glucose, a 25 C, as células observadas têm forma elíptica, oval ou alongada, com cerca de (2,9-4,3) x (3,6-7,2)  m (Meyer, Ahearn & Yarrow, 1984; Trofa et al., 2008; Nosek et al., 2009). Podem-se apresentar isoladas, aos pares ou em pequenas cadeias, e o pseudomicélio pode, por vezes, ser visível (Meyer, Ahearn & Yarrow, 1984). É comum a presença de sedimento (Meyer, Ahearn & Yarrow, 1984).

Em meio sólido constituído por ágar peptonado com extracto levedura e glucose, poderão ser observadas col nias brilhantes, com coloração branca a creme e, na maioria das estirpes, de textura suave, após incubaa o a 25 C durante um mês (van Uden & Buckley, 1970 citado por Meyer, Ahearn & Yarrow, 1984; Silva et al., 2011). Em *corn meal agar*, a maioria das estirpes formam pseudomicélio (Meyer, Ahearn & Yarrow, 1984).

Esta espécie cresce a 37 C (Meyer et al., 1984), e, ao contrário da *C. albicans*, não produz verdadeiras hifas mas pseudohifas (Trofa et al., 2008; Silva et al., 2011).

7.9 *Candida silvicola*

Esta espécie constitui o estado imperfeito de *Hansenula holstii*, e o seu nome foi proposto por Shifrine & Phaff em 1956 (Kurtzman, 1984).

Em meio sólido de ágar de extracto de malte a 5%   possível observar, após três dias de incubaa o a 25 C, células de forma elíptica a alongada com (1,7-4,0) x (2,1-6,9)  m, formando col nias brancas (Kurtzman, 1984). O crescimento a 37 C   variável e poderão ser observadas hifas e pseudohifas (Kurtzman, 1984).

7.10 *Candida valida*

Reconhecida em 1970 por van Uden & Buckley como *Candida valida* (Meyer et al., 1984), foi já isolada em humanos, em secreções respiratórias e da vagina (García-Martos et al., 2001). Em água peptonada com extracto levedura e glucose (três dias a 25°C), os organismos observados são ovóides a cilíndricos, com (1,4-3,6) x (3,6-14,4) µm (Meyer et al., 1984). Podem apresentar-se isolados, emparelhados ou cacho e com pseudomicélio evidente (Meyer et al., 1984). O sedimento torna-se evidente após um mês de incubação nas condições acima referidas (Meyer et al., 1984). Após um mês de incubação a 25°C, podem-se observar culturas brancas a cremes, lisas e baças (Meyer et al., 1984). As margens são irregulares e com micélio (Meyer et al., 1984). A sementeira em placa de *corn meal agar* permite o desenvolvimento de um pseudomicélio que poderá ser alongado, ligeiramente curvo e com alguns blastosporos (Meyer et al., 1984). Esta espécie não cresce a 37°C (Meyer et al., 1984).

CAPÍTULO III - ESTUDO EXPERIMENTAL

1. DESENHO EXPERIMENTAL

1.1 Objectivos

Este trabalho teve, por um lado, o objectivo de conhecer alguns dos agentes infecciosos que afectam a população felina da Associação dos Amigos dos Animais Abandonados da Moita (AAAAMoita), e relacionar a sua eventual presença com as alterações clínicas apresentadas pelos animais em questão, nomeadamente a GECF e a DRF.

Pretendeu-se ainda sensibilizar os indivíduos que colaboram com a AAAAMoita para questões relacionadas com manejo e outros aspectos fundamentais na prevenção da infecção e manutenção do bem-estar animal.

1.2 Material e métodos

1.2.1 Amostra populacional em estudo

A amostra populacional em estudo é constituída por um grupo de 50 felinos da AAAAMoita, uma associação particular localizada na Moita (Setúbal, Portugal). Os animais estavam divididos por três gatis, constituídos por uma zona interior (3x4m) e outra exterior (3x4m), ambas cobertas. Cada gatil aloja, em média, 20 animais.

Figura 5 e 6. Gatil da AAAAMoita. (Fonte: original).



Figura 5.



Figura 6.

1.2.1.1 Critérios de inclusão e de exclusão

Para integrar o grupo de estudo foram admitidos 50 felinos da AAAAMoita, escolhidos aleatoriamente, independentemente da sua raça, sexo, idade, proveniência, estado vacinal e de desparasitação (desconhecidos até entrada na AAAAMoita, onde foram apenas

desparasitados externamente, mas sem cumprimento dos intervalos entre administrações), assim como eventuais doenças.

1.2.1.2 Caracterização da amostra populacional

A história pregressa de cada animal foi obtida através da realização de um inquérito ao indivíduo responsável pelo gatil (anexo 9).

Nenhum dos animais em estudo tem raça determinada, tendo sido recolhidos na rua, ou abandonados ou nascidos na AAAAMoita.

Todos os machos, à excepção de três, estavam orquidectomizados e, por questões económicas, algumas das fêmeas não estavam ovariectomizadas.

A tabela 2 apresenta a distribuição dos animais em estudo por sexo e classe etária.

Tabela 2. Frequência absoluta e relativa do sexo e idade da amostra populacional em estudo.

	Frequência Absoluta	Frequência Relativa (%)
Sexo		
Macho	26	52
Fêmea	24	48
Idade (anos)		
1-3	17	34
4-5	19	38
6-7	3	6
> 8	5	10
Desconhecida	6	12

1.2.2 Exame clínico e colheita de amostras

A colheita de amostras decorreu entre os dias 3 e 13 de Maio de 2011, na AAAAMoita e no Hospital Veterinário SOSVet.

Cada animal foi submetido a exame de estado geral com preenchimento de respectiva ficha clínica (anexo 10), e posterior colheita de amostras. A classificação da gengivite (anexo 11) foi adaptada de Gorrel (2004), o estado de hidratação foi avaliado com base na elasticidade da pele, e a avaliação da condição corporal baseou-se na visualização da silhueta do animal e na palpação para avaliação da gordura subcutânea e desenvolvimento da musculatura superficial.

Por punção da veia jugular foram colhidos cerca de 2 mL de sangue total periférico para tubo EDTA, e efectuadas duas zaragatoas da cavidade oral. O sangue e as zaragatoas para detecção de FHV-1 e FCV foram mantidos em refrigeração, a cerca de 4°C, até processamento, sendo que as restantes zaragatoas foram armazenadas à temperatura ambiente, ao abrigo da luz.

Por dificuldades de contenção dos animais, houve necessidade de sedar seis animais com ketamina (5 µg/kg) associada a dexmedetomidina (40 µg/kg).

1.2.3 Processamento das amostras

As zaragatoas orais refrigeradas foram eluídas em 200 µL de solução salina tamponada de fosfato (*phosphate buffered saline*, PBS), com posterior homogeneização em vórtex. A extracção de ácidos nucleicos das amostras foi efectuada com o QIAamp MinElute Virus Spin Kit® (Qiagen), segundo as indicações descritas pelo fabricante. Os ácidos nucleicos obtidos foram quantificados no NanoDrop 2000c Spectrophotometer® (Thermo Fisher Scientific), e conservados à temperatura de - 80°C até utilização.

As zaragatoas orais para isolamento de *Candida* spp. foram semeadas, por estria, em placa com meio de *Sabouraud* dextrose agar (Oxoid, ref. CM-41) com gentamicina (BS 00900 - Biokar Diagnostics), e foram armazenadas em local escuro, à temperatura ambiente.

O sangue em tubo EDTA destinou-se à realização de hemograma (Hemavet 950FS, Drew Scientific), cerca de 30 minutos após a colheita.

1.2.4 Métodos de diagnóstico

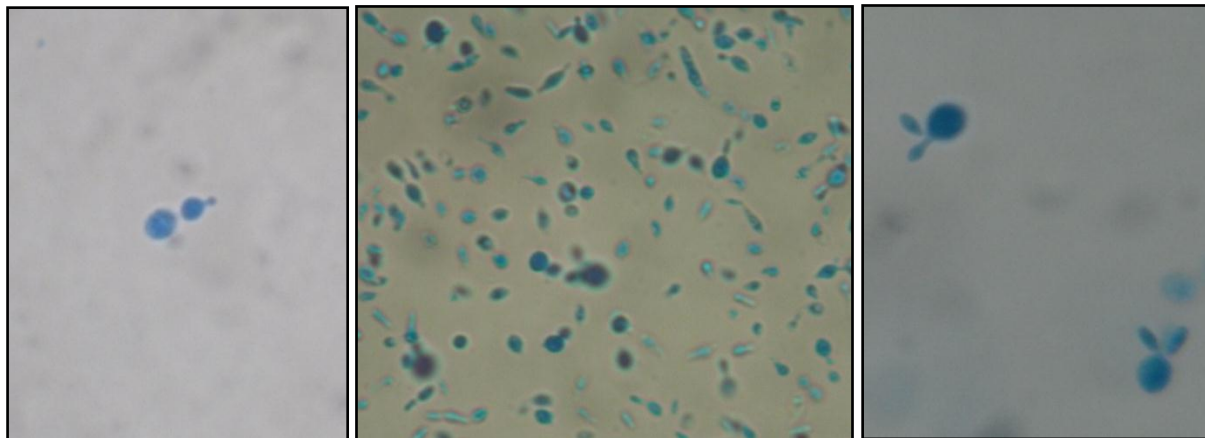
O diagnóstico de FIV e FeLV foi efectuado logo após exame de estado de geral, por imunocromatografia de membrana, através da realização do teste rápido Speed® Duo FeLV/FIV (Virbac) com sangue total, segundo o protocolo descrito pelo fabricante. Este método apresenta, para a detecção de FIV, uma sensibilidade de 96,3% e especificidade de 98,9%, e 94,7% e 99,2% de sensibilidade e especificidade, respectivamente, para detecção de FeLV (Hartmann et al., 2007).

Os ácidos nucleicos extraídos das zaragatoas orais foram descongelados em gelo, homogeneizados e mantidos em gelo até ao final do procedimento. O FHV-1 e o FCV foram detectados, respectivamente, por PCR em tempo real e RT-PCR convencional, de acordo com as metodologias implementadas pelo Laboratório de Virologia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa (FMV-UTL). A detecção de FHV-1 consistiu numa adaptação do protocolo descrito por Sykes et al. (2001), e o RT-PCR para FCV teve por base o protocolo descrito Wilhelm & Truyen (2006). A sensibilidade e especificidade destes métodos de diagnóstico não são conhecidas, pelo que se assumiu uma sensibilidade e especificidade de 100%, para ambas as técnicas. Sabe-se, no entanto, que o PCR em tempo real para detecção de FHV-1 tem sensibilidade para detectar até 50 cópias de viriões.

Após a amplificação dos ácidos nucleicos, as amostras foram corridas por electroforese, num gel de agarose a 2,5%. As bandas obtidas foram visualizadas e fotografadas sob luz ultra-violeta utilizando o Image Master® VDS e o software Liscap Image Capture versão 1.0 (Pharmacia Biotech).

Após 48 horas de incubação, as colónias que cresceram nas placas de *Sabouraud* dextrose agar com gentamicina foram coradas com azul de algodão, e observadas ao microscópio óptico para distinção entre bactérias e leveduras.

Figura 7. Leveduras coradas com azul de algodão (ampliação de 100x). (Fonte: original).



As placas sem crescimento fúngico foram desprezadas e aquelas com leveduras foram repicadas para uma nova placa em meio de *corn meal* agar para realização de provas de filamentação. As leveduras foram identificadas quanto ao género e espécie, por métodos bioquímicos através do kit comercial API ID 32C® (bioMérieux), pelo Laboratório Nacional de Investigação Veterinária (LNIV). Num estudo de Ramani, Gromadzki, Pincus, Salkin & Chaturvedi (1998), determinou-se que o API ID 32C detectou com precisão, 86% das leveduras quanto à espécie, sem necessidade de testes adicionais. A filamentação das colónias foi observada ao microscópio óptico com coloração azul de algodão.

1.2.5 Análise estatística

As prevalências obtidas foram ajustadas à sensibilidade e especificidade do método diagnóstico usado, utilizando o método de Wilson, através do pacote epi.R do programa R (Sergeant, 2009). Considerando o reduzido tamanho da amostra, foi utilizado o teste exacto de Fisher, no programa R, para análise estatística dos resultados obtidos. O nível de significância (p) assumido foi de 0,05, para um intervalo de confiança (IC) de 95%.

2 RESULTADOS

Os resultados obtidos para as prevalências absoluta, aparente e real, de cada um dos agentes pesquisados são apresentados na tabela 3.

Tabela 3. Frequência absoluta, prevalência aparente e prevalência real, para cada um dos agentes pesquisados, com intervalo de confiança de 95%.

Agente	Frequência Absoluta	Prevalência Aparente (%)	IC 95%	Prevalência Real (%)	IC 95%
FIV	11	22,0	12,8 - 35,2	21,9	12,2 - 35,9
FeLV	5	10,0	4,3 - 21,4	9,8	3,8 - 21,9
FCV	13	26,0	15,9 - 39,6	26,0	15,9 - 39,6
FHV-1	31	62,0	48,2 - 74,1	62,0	48,2 - 74,1
<i>C. parapsilosis</i>	1	2,0	1,0 - 10,5	2,0	1,0 - 10,5
<i>C. valida</i>	1	2,0	1,0 - 10,5	2,0	1,0 - 10,5
<i>C. silvicola</i>	3	6,0	2,1 - 16,2	6,0	21,0 - 16,2

Dos 50 animais testados, 22,0% (n=11) estavam infectados com FIV e 10,0% (n=5) com FeLV. O RT-PCR convencional permitiu detectar treze amostras positivas de FCV (26,0%), contudo, o agente mais encontrado na amostra populacional foi o FHV-1, com uma prevalência de 62,0% (31/50). Em todos os PCR efectuados, as bandas relativas aos controlos positivos, previamente sequenciados, tiveram o peso molecular esperado.

Figura 8. Exemplo de diagnóstico positivo a FIV, no teste rápido Speed® Duo FeLV/FIV (Virbac). (Fonte: original).



Figura 9. Fotografia de gel de agarose após corrida de RT-PCR convencional para detecção de FCV. Podem-se observar bandas correspondentes ao marcador (M), controle positivo (C +) e dez amostras positivas (seta). O controle negativo (C -) não foi amplificado, assim como as restantes amostras. (Fonte: original).

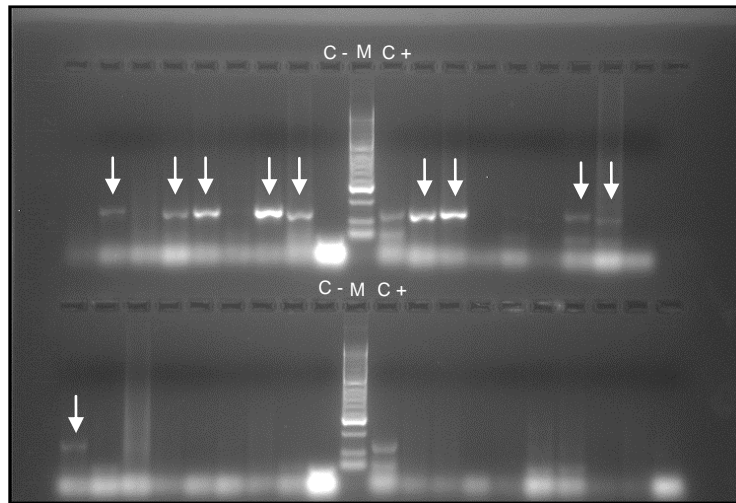
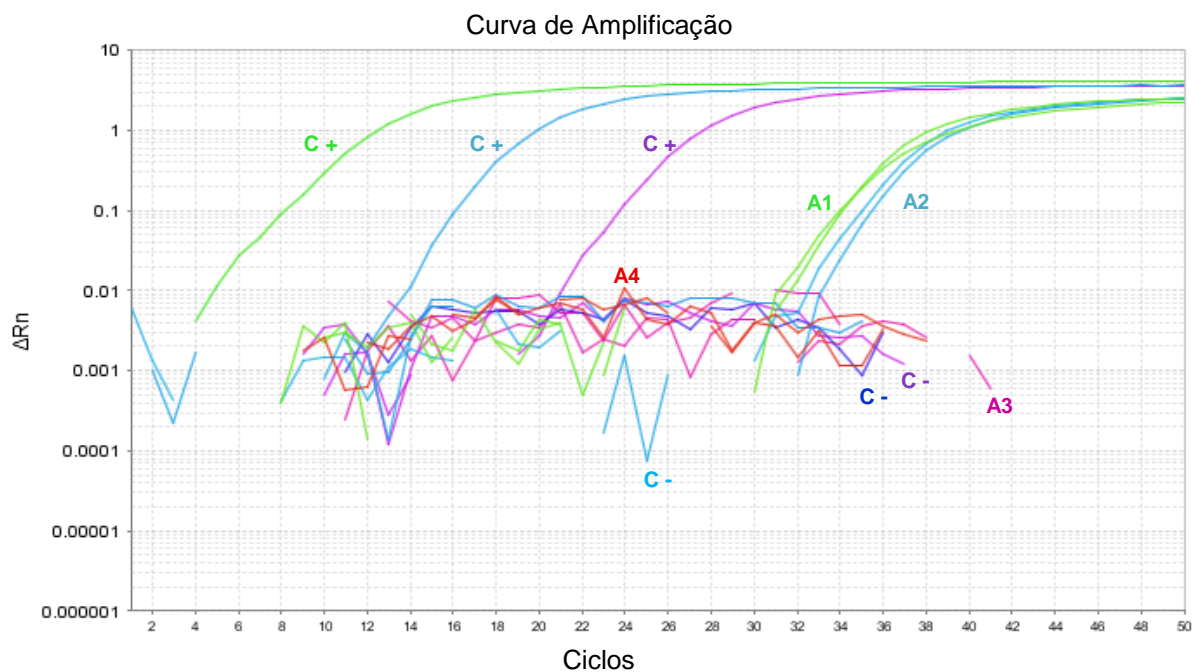


Figura 10. Resultado de PCR em tempo real para detecção de FHV-1. Estão representadas as curvas de amplificação de três controles positivos (C +) e de duas amostras positivas (A1 e A2), em duplicado. Nos três controles negativos (C -) não houve amplificação, assim como nas duas amostras negativas (A3 e A4). (Fonte: original).



No que diz respeito ao isolamento de *Candida* spp., as colónias apresentaram-se brilhantes, lisas e de coloração branca a amarela, tendo sido identificadas leveduras do género *C. silvicola* (n=3), *C. parapsilosis* (n=1) e *C. valida* (n=1).

Figura 11. *C. silvicola*. Prova de filamentação com coloração azul de algodão (a - ampliação 100x; b - ampliação 200x). (Fonte: original).

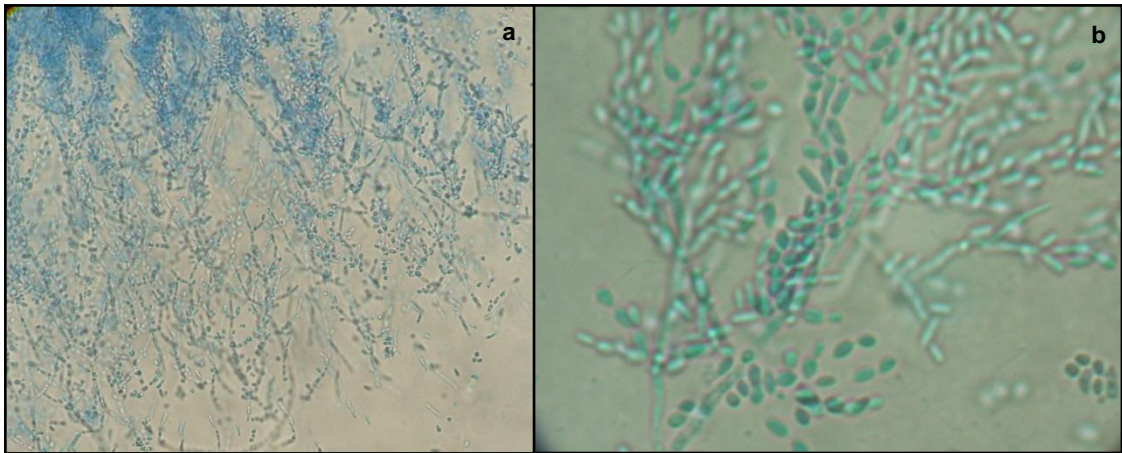
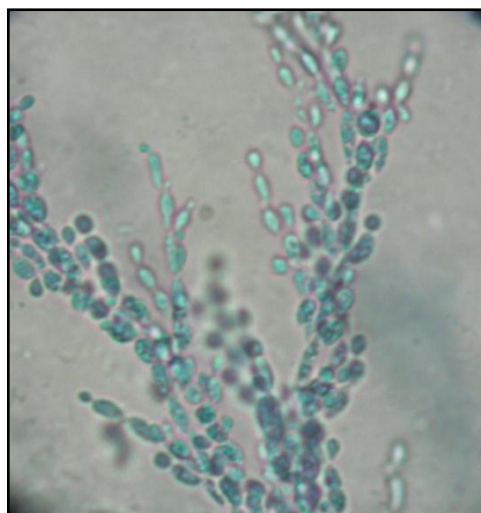


Figura 12. *C. parapsilosis*. Prova de filamentação com coloração azul de algodão (ampliação 200x). (Fonte: original).

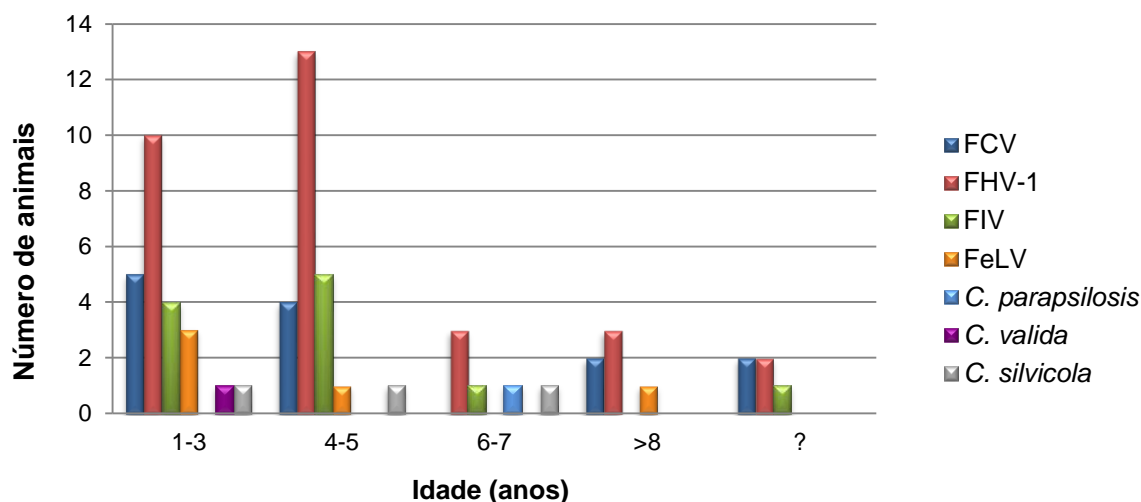


Figura 13. *C. valida*. Prova de filamentação com coloração azul de algodão (ampliação de 200x). (Fonte: original).



A distribuição por classes etárias dos animais positivos aos agentes pesquisados está representada no gráfico 1.

Gráfico 1. Número de animais positivos aos diferentes agentes pesquisados, distribuídos por classes de idade.



Na classe de idades “1-3 anos” foram detectados todos os agentes pesquisados, à exceção da *C. parapsilosis*. O FHV-1 foi o agente mais encontrado, o que aconteceu em 58,8% (n=10) dos dezassete animais com esta idade.

À semelhança da classe anterior, nos animais com idades compreendidas entre os 4 e os 5 anos, o FHV-1 foi agente com maior prevalência, afectando 68,4% (13/19) desses animais. Os restantes vírus pesquisados estavam também presentes nos animais desta classe, mas apenas um animal revelou a presença de leveduras na cavidade oral, nomeadamente, *C. silvicola*.

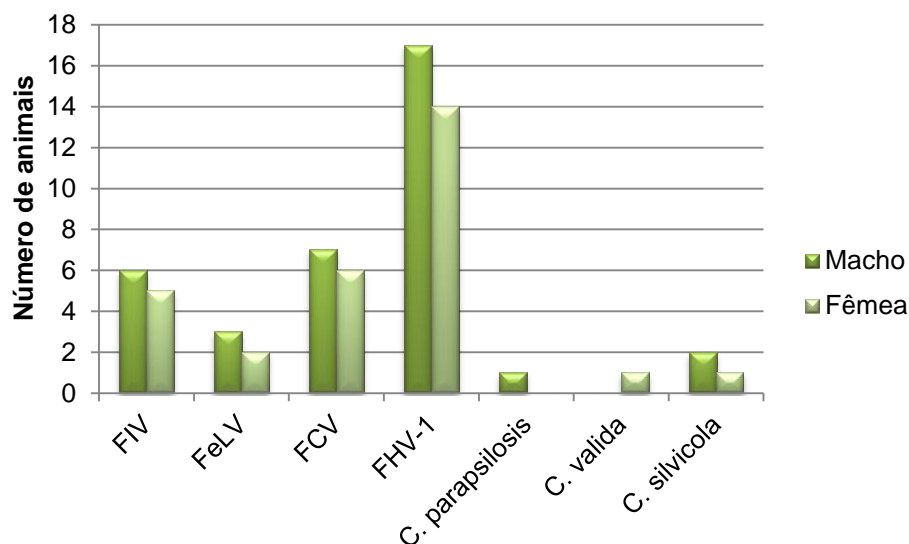
Na classe “6-7 anos” não foi detectada a presença de FCV nem FeLV em nenhum animal, mas todos os animais estavam infectados com FHV-1, um animal estava infectado com FIV, e as leveduras *C. parapsilosis* e *C. silvicola* foram detectadas em dois animais.

No grupo de animais com idade superior a 8 anos, todos os animais estavam infectados com FHV-1, dois eram positivos para FCV, apenas um animal foi positivo a FeLV, e nenhum para FIV.

Nos seis animais com idade desconhecida, apenas foi detectado FCV e FHV-1 em 33,3% (n=2) da amostra e FIV em 16,7% (n=1).

No gráfico 2 está representada a distribuição segundo o sexo, dos animais positivos aos vários agentes pesquisados.

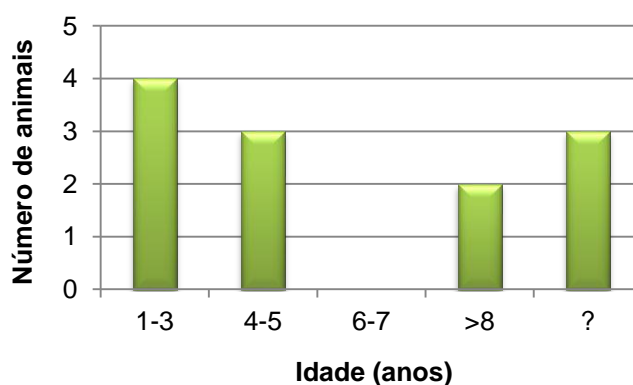
Gráfico 2. Número de animais positivos aos diferentes agentes pesquisados, distribuídos segundo o sexo.



Os vírus detectados atingiam felinos de ambos os sexos, apesar de os machos apresentarem uma prevalência ligeiramente superior. Em relação às leveduras, a *C. silvicola* foi isolada tanto em machos como em fêmeas, enquanto que a *C. parapsilosis* foi detectada num macho e a *C. valida* numa fêmea.

Na amostra populacional em estudo, 24,0% (12/50) dos animais não revelaram a presença de nenhum dos agentes pesquisados. A sua distribuição por classes etárias e sexo está representada nos gráficos 3 e 4, respectivamente.

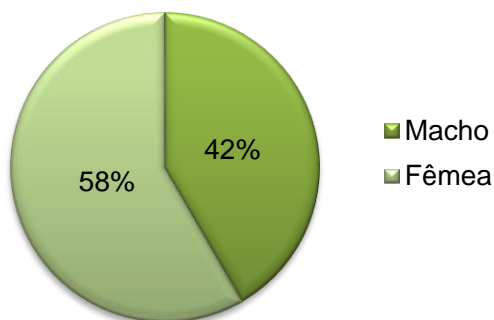
Gráfico 3. Número de animais negativos a todos os agentes, distribuídos por classes de idade.



Os animais negativos a todos os agentes em estudo incluem-se nas categorias de idades de “1-3 anos” (n=4), “4-5 anos” (n=3), “mais de 8 anos” (n=3) e com “idade desconhecida” (n=2), pelo que se pode concluir que todos os animais com idade compreendida entre os 6 e os 7 anos estavam infectados com, pelo menos, um dos agentes em questão.

Gráfico 4. Número de animais negativos a todos os agentes, segundo o sexo.

Animais não infectados



Os animais não infectados por nenhum dos agentes pesquisados eram maioritariamente do sexo feminino.

De referir que, independentemente da sensibilidade e especificidade inerente a cada teste, existem outros factores externos que podem alterar as prevalências obtidas, tais como o momento da colheita (período de latência ou fase de excreção/virémia activa), a técnica de colheita (volume da amostra, local de colheita), o método de conservação das amostras ou a quantidade de agente presente na amostra a testar.

As alterações verificadas no hemograma serão apresentadas na discussão dos resultados, sempre que tal seja relevante.

Nas tabelas 4 e 5 são apresentadas as associações estabelecidas entre a presença/ausência do agente infeccioso pesquisado e presença/ausência do sinal clínico relacionado com a GECE e a DRF, respectivamente.

Tabela 4. Associação entre os agentes pesquisados e os sinais clínicos associados à GECE, com respectivo nível de significância (p).

Agente	Sinais Clínicos					
	Úlceras Linguais		Estomatite		Gengivite	
	- (n=38)	+ (n=12)	- (n=33)	+ (n=18)	≤ 1 (n=38)	≥ 2 (n=12)
FCV - (n=37)	31	6	28	9	31	6
FCV + (n=13)	7	6	4	9	7	6
p	0,055		0,006		0,055	
FCV e FIV - (n=47)	38	9	32	15	36	11
FCV e FIV + (n=3)	0	3	0	3	2	1
p	0,011		0,042		1,000	
FCV e FeLV - (n=47)	37	10	33	15	36	11
FCV e FeLV + (n=3)	1	2	0	3	2	1
p	0,139		0,042		1,000	
FHV-1 - (n=19)	11	8	11	8	15	4
FHV-1 + (n=31)	27	4	21	10	23	8
p	0,038		0,552		1,000	
FHV-1 e FIV - (n=45)	34	11	29	16	36	11
FHV-1 e FIV + (n=5)	4	1	3	2	4	1
p	1,000		1,000		1,000	
FHV-1 e FeLV - (n=47)	37	10	33	15	36	11
FHV-1 e FeLV + (n=3)	1	2	0	3	2	1
p	0,139		0,042		1,000	
<i>C. parapsilosis</i> (n=1)	1	0	1	0	1	0
p	1,000		1,000		1,000	
<i>C. silvicola</i> (n=3)	2	1	2	1	3	0
p	1,000		1,000		1,000	
<i>C. valida</i> (n=1)	1	0	0	1	1	0
p	1,000		0,360		1,000	
FIV - (n=39)	32	7	28	11	30	9
FIV + (n=11)	6	5	4	7	8	3
p	0,105		0,040		1,000	
FeLV - (n=45)	35	10	32	14	35	10
FeLV + (n=5)	3	2	1	4	3	2
p	0,582		0,050		0,582	

Legenda: (-) - não infectado; sem sinal clínico; (+) - infectado; com sinal clínico

Dos animais que apresentavam úlceras linguais e gengivite de grau igual ou superior a 2, 50,0% estavam infectados com FCV (6/12), tendo o mesmo sido observado nos animais com estomatite (9/18). Em relação aos três animais infectados com FCV e FIV, verificou-se que todos apresentavam lesões ulcerativas na língua e estomatite, mas apenas um apresentava gengivite de grau igual ou superior a 2 (33,3%). No que diz respeito à co-infecção por FCV e FeLV, verificou-se que todos os animais apresentavam estomatite (100%) mas apenas um tinha gengivite de grau igual ou superior a 2 (33,3%). As úlceras linguais foram observadas em dois dos animais com esta co-infecção (66,7%).

Em relação ao FHV-1, 32,3% (10/31) dos animais infectados tinham estomatite, 25,8% (8/31) tinham gengivite de grau igual ou superior a 2 e, apenas 12,9% (4/31) apresentavam úlceras na língua. Na co-infecção com FHV-1 e FIV, 20,0% dos animais apresentavam úlceras ao nível da língua e/ou gengivite de grau igual ou superior a 2 (1/5) e 40,0% (2/5) tinham estomatite. Dos três animais com infecção concomitante por FHV-1 e FeLV 100% apresentavam estomatite aquando do exame físico, 66,7% (2/3) tinham lesões ulcerativas na língua e 33,3% (1/3) apresentavam gengivite de, pelo menos, grau 2.

O animal infectado com *C. parapsilosis* não manifestava qualquer alteração a nível da cavidade oral, i.e. úlceras, estomatite ou gengivite. Os animais que revelaram a presença de *C. silvicola* na orofaringe não apresentavam gengivite de grau igual ou superior a 2, e apenas se observaram úlceras e estomatite em 33,3% (1/3) dos animais infectados. No que diz respeito à infecção por *C. valida*, a única alteração verificada no animal em questão foi a presença de estomatite.

Dos onze animais em que foi detectada a presença de FIV, 45,4% (5/11) tinham úlceras ao nível da cavidade oral, 63,6% (7/11) tinham estomatite e 27,3% (3/11) manifestavam gengivite de, pelo menos, grau 2.

A estomatite foi a alteração mais evidente nos animais com FeLV, manifestada por 80,0% (4/5) dos animais deste grupo. A presença de úlceras linguais e gengivite, de grau igual ou superior a 2, foi observada em 40,0% (2/5) dos animais.

Tabela 5. Associação entre os agentes pesquisados e os sinais clínicos associados à DRF, com respectivo nível de significância (p).

Agente	Sinais Clínicos							
	Conjuntivite		Corrimento Ocular		Corrimento Nasal		Alterações Respiratórias Superiores	
	- (n=45)	+ (n=5)	- (n=33)	+ (n=17)	- (n=42)	+ (n=8)	- (n=48)	+ (n=2)
FCV - (n=37)	33	4	23	14	30	7	35	2
FCV + (n=13)	12	1	10	3	12	1	13	0
p	1,000		0,499		0,662		1,000	
FCV e FIV - (n=47)	42	5	31	16	39	8	45	2
FCV e FIV + (n=3)	3	0	2	1	3	0	3	0
p	1,000		1,000		1,000		1,000	
FCV e FeLV - (n=47)	42	5	30	17	39	8	45	2
FCV e FeLV + (n=3)	3	0	3	0	3	0	3	0
p	1,000		0,542		1,000		1,000	
FHV-1 - (n=19)	16	3	11	8	17	2	17	2
FHV-1 + (n=31)	29	2	22	9	25	6	31	0
p	0,355		0,373		0,693		0,140	
FHV-1 e FIV - (n=45)	40	5	30	15	38	7	43	2
FHV-1 e FIV + (n=5)	5	0	3	2	4	1	5	0
p	1,000		1,000		1,000		1,000	
FHV-1 e FeLV - (n=47)	42	5	30	17	40	7	45	2
FHV-1 e FeLV + (n=3)	3	0	3	0	2	1	3	0
p	1,000		0,542		0,414		1,000	
C. parapsilosis (n=1)	1	0	0	1	1	0	1	0
p	1,000		0,340		1,000		1,000	
C. silvicola (n=3)	3	0	2	1	2	1	3	0
p	1,000		1,000		0,414		1,000	
C. valida (n=1)	1	0	1	0	0	1	1	0
p	1,000		1,000		0,160		1,000	
FIV - (n=39)	35	4	27	12	33	6	37	2
FIV + (n=11)	10	1	6	5	9	2	11	0
p	1,000		0,475		1,000		1,000	
FeLV - (n=45)	41	4	29	16	38	7	43	2
FeLV + (n=5)	4	1	4	1	4	1	5	0
p	0,423		0,650		1,000		1,000	

Legenda: (-) - não infectado; sem sinal clínico; (+) - infectado; com sinal clínico

A nível ocular apenas um animal com FCV apresentava conjuntivite (7,7%), e três tinham corrimento ocular (23,1%). Dos oito animais com corrimento nasal, apenas foi detectada a presença do agente em um animal (12,5%). Nenhum dos animais infectados por calicivírus apresentou dificuldades respiratórias a nível das vias aéreas superiores (0,0%). Dos animais co-infectados com FCV e FIV apenas um apresentou corrimento ocular (33,3%), não tendo sido observados sinais de conjuntivite, corrimento nasal nem alterações respiratórias. Na co-infecção FCV-FelV, nenhum animal manifestou alterações oculares (conjuntivite ou corrimento) nem nasais (corrimento ou dificuldades respiratórias superiores).

Apesar da detecção de herpesvírus em 31 dos 50 animais, nenhum apresentou alterações respiratórias das vias aéreas superiores (0,0%), mas seis (19,4%) tinham corrimento nasal. A conjuntivite foi observada em apenas dois (6,4%) dos animais infectados, e nove (29,0%) tinham corrimento ocular evidente. Os animais infectados com FHV-1 e FIV, manifestaram apenas corrimento ocular (40,0%) e nasal (20,0%). Dos três animais positivos a FHV-1 e a FelV, apenas um (20,0%) apresentavam corrimento nasal ao exame físico.

O animal infectado com *C. parapsilosis* manifestava apenas corrimento ocular, não tendo sido observadas outras alterações como conjuntivite, corrimento nasal nem alterações respiratórias a nível das vias aéreas superiores. Na infecção com *C. silvicola*, foi observado corrimento ocular (33,3%) e nasal (33,3%), sem evidências de conjuntivite nem dificuldades respiratórias superiores. A presença de corrimento nasal foi a única alteração observada no animal com *C. valida*, pelo que os restantes sinais avaliados (conjuntivite, corrimento ocular e alterações respiratórias superiores) tiveram uma prevalência de 0% nesta infecção.

Nos animais com infecção por retrovírus, observou-se uma prevalência de 9,1% (1/11) na infecção por FIV e 20,0% (1/5) no caso do FelV, para a presença de conjuntivite. Dos animais com corrimento ocular, 29,4% (5/17) eram positivos a FIV e 5,9% (1/17) a FelV. O corrimento nasal foi manifestado apenas por dois animais com FIV (18,2%) e um com FelV (20,0%). Nenhum dos animais infectados com FIV ou FelV apresentava alterações respiratórias superiores.

3 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

3.1 Vírus da Imunodeficiência Felina

3.1.1 Prevalência na amostra

Desde que foi descoberto, em 1986, o Vírus da Imunodeficiência Felina tem sido alvo de estudo em áreas distintas. No que respeita à determinação da sua prevalência, são vários os exemplos de ensaios clínicos desenvolvidos ao longo dos últimos anos, a nível mundial. Com base apenas no diagnóstico por ELISA, destacam-se, de seguida, alguns estudos.

Na Finlândia, Sukura et al. (1992) detectaram a presença de FIV em 6,6% dos 196 animais errantes testados. Em 2000, Arjona et al. constataram que a prevalência de FIV em animais domésticos da área metropolitana de Madrid foi de 8,3%. Lee, Levy, Gorman, Crawford & Slater (2002), testaram duas populações distintas de felinos errantes dos EUA, e obtiveram prevalências de 2,3% e 4,3%. Ainda nos EUA, um estudo transversal efectuado por Levy et al. (2006), em que foram testados 18038 animais ao nível de clínicas veterinárias e gatis, revelou uma prevalência de 2,5% para o agente em questão. Já Little, Sears, Lachtara & Bienzle (2009), testaram 1556 gatos errantes do Canadá, e observaram que a prevalência de FIV na amostra foi de 6,4%.

Estes resultados sugerem assim que, apesar da distribuição mundial, o FIV não é, geralmente, um vírus de elevada prevalência, mesmo a nível de populações errantes.

Na amostra populacional em estudo foi detectada a presença de FIV por imunocromatografia de membrana, em 22,0% (11/50) dos animais (tabela 3). Num estudo anteriormente realizado por Rosado (2009), em que felinos errantes da área metropolitana de Lisboa foram testados por ELISA, observou-se uma prevalência de 18,0% para este agente. Em 2010, Duarte et al. testaram 223 felinos da mesma região, por *immunoblotting*, e obtiveram uma prevalência de 10,2% para a infecção por FIV.

O facto de a prevalência obtida no presente estudo ser ligeiramente mais elevada que nos rastreios mencionados, poderá ser eventualmente explicada pela elevada densidade populacional dos gatis que albergam a amostra populacional de animais em questão, e por não haver separação entre animais infectados e não infectados, aumentando assim a disseminação do agente.

Contrariamente ao que sucede na maioria das infecções, na infecção por FIV os animais mais novos não são os mais susceptíveis a este agente (Richards et al., 2006), sendo que a maioria das infecções ocorre em animais adultos (Bendinelli et al., 1995; Levy et al., 2006; Gleich et al., 2009; Little et al., 2009). Num estudo de Akhtardanesh et al. (2010) observou-se que o risco de infecção por FIV aumenta 1,84 vezes por cada ano de idade do animal, e Levy et al. (2006) constataram que um animal adulto poderá ter um risco de infecção cerca quatro vezes maior que um animal jovem. A prevalência de infecção por FIV foi de 23,5%

(4/17) nos animais com 1 a 3 anos de idade, 26,3% (5/19) nos animais com 4 a 5 anos e 33,3% (1/3) na classe “6 a 7 anos” (gráfico 1). Nenhum dos animais com mais de 8 anos estava infectado com FIV e a prevalência nos animais com idade desconhecida foi de 16,7% (1/6). Considerando que a partir do ano de idade, um animal entra na fase adulta, conclui-se que todos os animais incluídos no presente estudo eram adultos, pelo que não é possível fazer uma analogia correcta entre a infecção por FIV em animais jovens e adultos. No entanto, a prevalência observada foi proporcionalmente mais elevada nos animais mais velhos.

Por outro lado, os machos errantes e inteiros são os mais atingidos, em parte devido ao seu comportamento tendencialmente mais agressivo, sendo o risco de infecção de um macho mais de duas vezes superior ao das fêmeas (Yamamoto et al., 1989; Sukura et al., 1992; Bendinelli et al., 1995; Levy et al., 2006; Richards et al., 2006; Sellon & Hartmann, 2006; Gleich et al., 2009; Akhtardanesh et al., 2010; Grace, 2011a; Lairmore, 2011). Analisando os animais infectados com FIV quanto ao sexo (gráfico 2), observa-se que 54,5% destes animais eram machos e 45,5% fêmeas, pelo que se pode concluir que a diferença entre sexos é pouco expressiva. Sukura et al. (2000) constataram que a taxa de infecção por FIV nos machos era 4,7 vezes superior à das fêmeas. Num estudo de Lee et al. (2002), foram observadas seroprevalências de 6,3% para os machos, e 1,5% para as fêmeas. Os resultados posteriormente obtidos por Maruyama et al. (2003) vieram reforçar os dados anteriores, pois a proporção de machos infectados foi de 14,3%, comparativamente aos 5,0% de fêmeas positivas a FIV. A influência da esterilização foi também demonstrada por Little et al. (2009) em que se observou que 7,4% dos machos inteiros estavam infectados com FIV, comparativamente aos 3,0% de machos castrados infectados. Na amostra populacional em estudo, nenhum dos três machos inteiros estava infectado com FIV. Em todos os estudos anteriormente citados os resultados obtidos foram estatisticamente significativos, o que não se sucedeu no presente estudo, embora se tenham obtido resultados semelhantes.

Tal como esperado, no estudo de Maruyama et al. (2003) a prevalência de infecção por FIV nos animais com acesso ao exterior (15,0%) foi superior à prevalência observada em animais domésticos que permanecem continuamente em casa (4,6%), tendo este pressuposto sido também constatado por Levy et al. (2006), em que houve, inclusivamente, uma associação estatisticamente significativa. Na amostra em estudo, todos os animais são considerados errantes, pelo que nada se pode concluir acerca desta associação.

3.1.2 Associação com sinais clínicos associados à GECF

Considerando a imunodepressão associada à infecção por FIV, presume-se que a importância deste agente no desenvolvimento da GECF seja sobretudo devido ao facto de potenciar, não só a infecção, mas também a subsequente manifestação clínica de outros

agentes, nomeadamente o FCV. Ao longo dos últimos anos, são vários os estudos em que foi constatado que animais FIV-positivos parecem ter uma maior prevalência de infecções da cavidade oral, e com maior gravidade, que gatos não infectados (Tenorio et al., 1991; Waters et al., 1993).

Por observação da tabela 4 é possível concluir que a presença de úlceras nos animais imunossuprimidos por FIV (45,4%) contrasta com a prevalência observada nos animais não infectados (17,9%). Por outro lado, dos doze animais que apresentavam lesões ulcerativas aquando do exame físico, 41,7% (5/12) eram FIV-positivos. Apesar de um elevado número de animais com FIV apresentarem estas lesões, esta associação não se revelou estatisticamente significativa.

Num estudo de Quimby et al. (2008) verificou-se uma prevalência de FIV em 77,8% dos animais com estomatite, sem que, no entanto, os resultados fossem estatisticamente significativos. Pelo contrário, na presente amostra (tabela 4), 38,9% (7/18) dos animais com estomatite estavam infectados com FIV (estatisticamente significativo; $p = 0,040$), o que sugere que de facto este vírus poderá estar associado ao desenvolvimento de GEFC, mas que a sua presença, por si só, poderá não ser suficiente para despoletar a ocorrência da lesão.

No que respeita à gengivite, Tenorio et al. (1991) constataram que os animais infectados com FIV manifestavam, de um modo geral, uma gengivite ligeira a moderada, o que corresponderá, respectivamente, aos graus 1 e 2 da classificação utilizada neste estudo. Na amostra populacional felina da AAAAMoita, verificou-se que 27,3% (3/11) dos animais FIV-positivos apresentavam gengivite de, pelo menos, grau 2, o que corresponde a 25,0% (3/12) da totalidade de animais com esta lesão (tabela 4). À semelhança do que se verificou com as lesões ulcerativas, esta associação também não foi estatisticamente significativa.

Figura 14. Ulceração lingual e estomatite moderada num felino infectado com FIV. (Fonte: original).

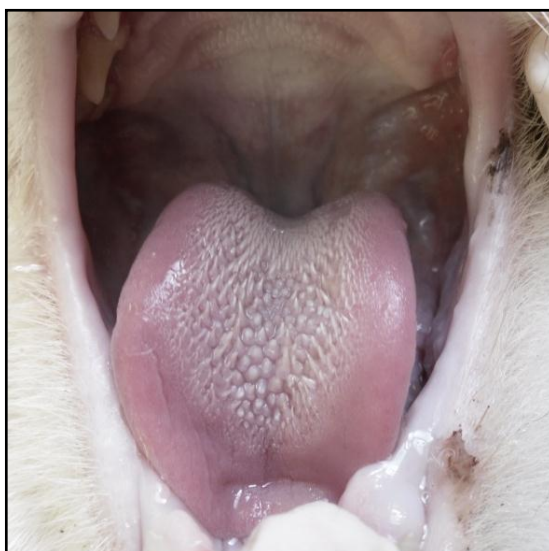
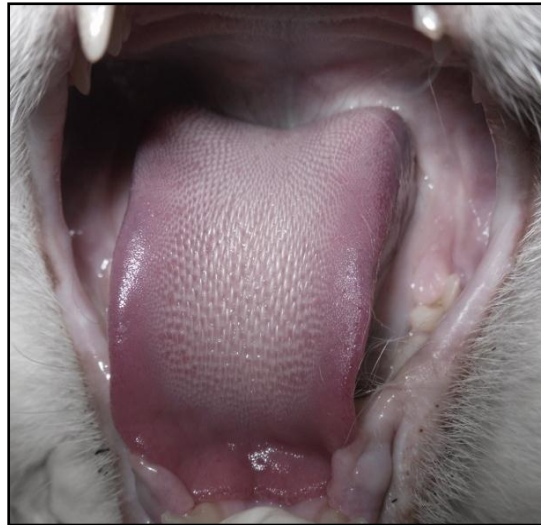


Figura 15. Felino infectado com FIV e FeLV, sem alterações da cavidade oral. (Fonte: original).

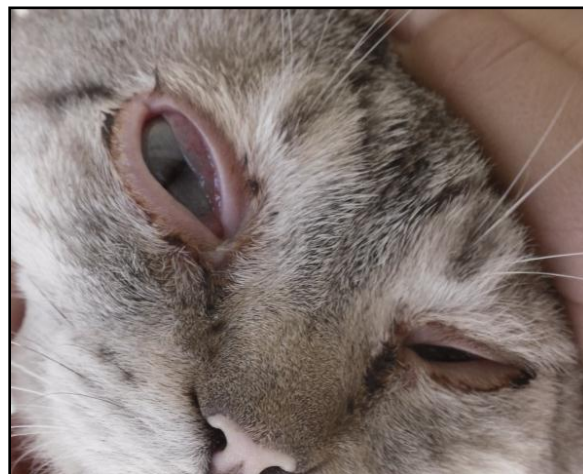


3.1.3 Associação com sinais clínicos associados à DRF

A tabela 5 revela que dos cinco animais que se apresentavam com conjuntivite ao exame físico, apenas um (20,0%) estava infectado com FIV.

Quanto ao corrimento ocular observado em dezassete animais, constatou-se que 29,4% (5/17) eram FIV-positivos (tabela 5).

Figura 16. Animal infectado com FIV e FeLV manifestando quemose exuberante e corrimento ocular purulento, em ambos os olhos. (Fonte: original).



No que se refere ao trato respiratório, nenhum dos animais testados apresentava alterações respiratórias das vias aéreas superiores, tendo a presença de corrimento nasal sido observada em 18,2% (2/11) dos animais infectados com FIV, o que corresponde a 25,0% (2/8) da totalidade dos animais com esta sintomatologia (tabela 5).

Estes resultados sugerem que o corrimento ocular poderá ser, dentro dos sinais associados à DRF, a alteração clínica mais influenciável pela presença de FIV.

3.1.4 Associação com outros sinais clínicos associados à infecção por FIV

Tendo em conta a patogenia da infecção por FIV, é previsível que outros sinais clínicos, para além dos já referidos na GECF e na DRF, surjam no decorrer da mesma.

A debilidade imunológica dos animais infectados reflecte-se, muitas vezes, ao nível da sua condição física. Na amostra em estudo, o exame físico permitiu constatar que cinco (45,5%) dos onze animais seropositivos a FIV apresentavam-se com excesso de peso, e apenas um animal (9,1%) se encontrava com peso abaixo do normal.

Nenhum animal apresentava alterações cutâneas, mas 27,2% (3/11) dos animais tinham aumento de, pelo menos, um grupo de linfonodos (Ishida et al., 1989; Yamamoto et al., 1989; Wise et al., 2005; Hosie et al., 2009).

Na amostra populacional em estudo não foram avaliadas as alterações inespecíficas associadas à infecção aguda por FIV como hipertermia, depressão, desconforto ou anorexia (Pedersen, Ho et al., 1987; Ishida et al., 1989; Pedersen et al., 1989; Poli et al., 1993; Bendinelli et al., 1995; del Fierro et al., 1995; Wise et al., 2005; Sellon & Hartmann, 2006; Horzinek et al., 2007; Grace, 2011a; Lairmore, 2011).

Por questões económicas, não foi avaliada a presença de insuficiência renal, por dano glomerular, intersticial e tubular devido a proteinúria grave (Yamamoto et al., 1989; Poli et al., 1993; Sellon & Hartmann, 2006; Grace, 2011a; Lairmore, 2011).

As convulsões ou alterações comportamentais, das quais se podem destacar a demência, tremores faciais e da língua, comportamento psicótico (esconder, aumento da agressividade), micção descontrolada e desorientação, observadas em animais com infecção terminal por FIV, não foram passíveis de ser avaliadas nos animais da amostra populacional, apesar de serem, geralmente, as alterações mais evidentes para os donos (Yamamoto et al., 1989; Sellon & Hartmann, 2006; Grace, 2011a).

Em relação ao perfil hematológico, um dos onze animais infectados com FIV revelou, contrariamente ao que seria de esperar (Shelton & Linenberger, 1995; Arjona et al., 2000; Lutz, 2006; Grace, 2011a), leucocitose moderada (30,08 K/ μ L em valores de referência: 5,5-19,5 K/ μ L) com neutrofilia (17,69 K/uL em 2,5-12,8 K/uL), linfocitose (9,56 K/uL em 1,5-7 K/uL) e monocitose (2,14 K/uL em 0,0-1,4 K/uL) ligeiras. Este facto sugere que a relação vírus-hospedeiro poder-se-á se encontrar em equilíbrio, pelo que o animal terá ainda um sistema imunitário capaz de debelar eventuais infecções concomitantes com a infecção por FIV, neste caso, FHV-1 e *C. silvicola*, e, justificar, por outro lado, a ausência de sinais clínicos no animal em questão.

3.2 Vírus da Leucemia Felina

3.2.1 Prevalência na amostra

Ao longo dos anos, tem-se verificado uma diminuição progressiva na prevalência de FeLV, sobretudo ao nível dos gatos, o que se poderá dever a uma melhoria no conhecimento da patogénese do agente, que por sua vez se reflecte numa prevenção mais adequada, tanto a nível do desenvolvimento de vacinas mais eficazes, como na melhoria das condições de manejo (Hartmann, 2006; Dunham & Graham, 2008; Levy et al., 2008b; Gleich et al., 2009; Lutz et al., 2009).

Considerando apenas os animais errantes, estimam-se prevalências de FeLV, detectado por ELISA, de 1,0% na Finlândia, 2,3% a 2,7% na América do Norte e 2,5% na Alemanha (Sukura et al., 1992; Hartmann, 2006; Levy et al., 2006; Little et al., 2009). Pode assim concluir-se que a distribuição mundial deste vírus não varia consideravelmente entre países, apesar de serem geograficamente distantes (Hartmann, 2006; Costa & Norsworthy, 2011).

Em Portugal, foram já realizados dois estudos de prevalência deste agente, em animais errantes da área metropolitana de Lisboa, em que as prevalências obtidas foram 10,9% e 7,1%, na detecção por ELISA (Rosado, 2009; Duarte et al., 2010). Na amostra agora testada observou-se que 10,0% dos animais em estudo estavam infectados com FeLV (tabela 3), o que, apesar de se ter utilizado uma metodologia de diagnóstico diferente, se coaduna com os resultados previamente mencionados. Algumas das características inerentes à amostra populacional em estudo, como a elevada densidade populacional, ausência de vacinação, ou manejo inadequado para doenças infecto-contagiosas, nas quais se incluem o FeLV, poderão justificar a prevalência obtida.

Num estudo de Maruyama et al. (2003), observou-se que não houve diferenças significativas na incidência de FeLV entre felinos domésticos, com e sem acesso ao exterior. No entanto, outros estudos evidenciaram que os animais com acesso ao exterior seriam mais atingidos pelo FeLV, do que animais restringidos à sua habitação, uma vez que a interacção social é a principal via de transmissão deste agente (Hartmann, 2006; Levy et al., 2006; Gleich et al., 2009; Little et al., 2009). Uma vez que no presente estudo todos os animais que integraram a amostra são considerados errantes, não foi possível estabelecer tal relação.

Num estudo preconizado por Levy et al. (2006), e posteriormente por Little et al. (2009), verificou-se que os animais adultos foram os mais afectados, o que, apesar de ter sido estatisticamente significativo, não é concordante com alguns autores (Hoover et al., 1976; Hosie, Robertson & Jarrett, 1890; Hartmann, 2006; Lutz et al., 2009; Akhtardanesh et al., 2010; Costa & Norsworthy, 2011). Mais uma vez, e há semelhança do que se sucedeu na análise dos resultados de FIV, na amostra em estudo não foi possível fazer uma analogia correcta entre animais jovens, *i.e.* com idade inferior a um ano, e animais adultos, infectados pelo agente. Analisando no entanto o gráfico 1, verifica-se que no grupo de animais com

idade superior a 8 anos, a taxa de infecção por FeLV foi de 20,0% (1/5), comparativamente aos 17,6% (3/17) de animais infectados com entre 1 a 3 anos, e 5,3% (1/19) nos animais de 4 a 5 anos. Esta informação, embora não tenha sido estatisticamente significativa, vem assim reforçar os dados obtidos por Levy et al. (2006) e Little et al. (2009). Contudo, parece haver uma explicação para a baixa prevalência de FeLV nos animais mais velhos. Supõe-se que a resistência vinculada à idade, não é resultante de uma resposta humoral protectora que se desenvolve logo após o primeiro contacto com o agente (Grant et al., 1980; Hartmann, 2006), mas devido ao facto de, aparentemente, à medida que o animal envelhece há uma diminuição no número de receptores celulares necessários à entrada de FeLV-A nas células-alvo. Estes receptores não estão ainda completamente identificados, mas parecem diferir entre estirpes de FeLV (Hartmann, 2006). Por outro lado, a maturação dos macrófagos e um aumento progressivo no número de Ac's anti-FeLV (por aumento da exposição ao vírus durante a vida), parecem contribuir para a resistência à infecção por FeLV (Hartmann, 2006). Num estudo desenvolvido na América do Norte, em que 8642 casos de animais infectados com o agente foram reportados desde 1973, a maior taxa de virémia foi encontrada num animal com menos de dois anos de idade (Hartmann, 2006). Contudo, o risco de desenvolvimento de um estado de virémia persistente poderá aumentar em animais mais velhos, caso coabitem com animais que excretem activamente o agente, durante um longo período de tempo, pelo que, a resistência associada à idade não é absoluta, uma vez que depende da pressão de infecção (Grant et al., 1980; Hartmann, 2006; Lutz et al., 2009). Em suma, a probabilidade de um animal adulto adquirir uma virémia persistente, após um curto contacto com o agente, é bastante baixa, pelo que, considerando a elevada incidência de sarcomas, supostamente associados à vacinação contra o FeLV, a prevenção através da vacinação em animais adultos deverá ser ponderada (Hartmann, 2006).

No que se refere ao sexo dos animais infectados (gráfico 2), tem-se vindo a verificar que a taxa de infecção nos machos é ligeiramente superior à das fêmeas, sem que no entanto essa diferença seja estatisticamente significativa (Hosie et al., 1890; Lee et al., 2002; Maruyama et al., 2003; Hartmann, 2006; Levy et al., 2006), tal como observado na amostra populacional em estudo, em que 60,0% dos animais infectados com FeLV eram machos e 40,0% eram fêmeas.

3.2.2 Associação com sinais clínicos associados à GECF

À semelhança do FIV, a importância do FeLV na patogénese da GECF deve-se, não à acção directa do vírus, mas sobretudo à consequente fragilidade imunitária intrínseca à infecção por este agente.

Com foco na cavidade oral, foi possível observar (tabela 4) que doze animais tinham lesões ulcerativas ao nível da língua, e que destes, 16,7% (2/12) eram FeLV-positivos, pelo que se conclui que dos cinco animais infectados com este agente, 40,0% apresentam úlceras.

A estomatite foi a alteração mais evidente, tendo sido manifestada por 80,0% (4/5) dos animais infectados por FeLV, o que corresponde a 22,2% (4/18) do total dos animais com esta lesão (tabela 4). Esta associação foi estatisticamente significativa ($p = 0,050$), assim como nas co-infecções por FCV-FeLV e FHV-1-FeLV, o que reforça a ideia de que a presença de FeLV poderá, de facto, potenciar a manifestação deste sinal clínico, tendo esta propensão já sido descrita por outros autores (Barrett et al., 1975, citado por Tenorio et al., 1991; Cotter et al., 1975, Tenorio et al., 1991). Um resultado antagónico foi obtido por Quimby et al. (2008), em que foram testados 45 animais por ELISA, dos quais nove apresentavam estomatite, sendo que o vírus não foi detectado em nenhuma das amostras.

Em relação à gengivite, de grau igual ou superior a 2, constatou-se que afectava 40,0% (2/5) dos animais FeLV positivos, e, portanto, 16,7% dos doze animais com esta lesão (tabela 4). No estudo de Tenorio et al. (1991), os animais infectados com FeLV apresentavam, em média, uma gengivite ligeira a moderada, ou seja, entre o grau 1 e 2, da classificação adoptada no presente estudo.

Figura 17. Estomatite grave e ulceração lingual num felino infectado com FeLV, FCV e FHV-1. (Fonte: original).



3.2.3 Associação com sinais clínicos associados à DRF

A nível ocular (tabela 5) foi possível verificar que 20,0% dos cinco animais que se apresentavam com conjuntivite ao exame físico, estavam infectados com FeLV, e que apenas 5,9% dos animais com corrimento ocular eram FeLV-positivos.

No que respeita às vias respiratórias, 12,5% (1/8) dos animais com corrimento nasal tinham FeLV, o que não se sucedeu em nenhum dos dois animais com alterações respiratórias superiores (tabela 5).

Estes resultados sugerem então que, aparentemente, a presença de FeLV não predispõe para o aparecimento de sintomatologia ao nível das cavidades nasal e oral, uma vez que essa condição também não se verificou nos animais co-infectados com FCV ou FHV-1. Contudo, nenhuma das associações acima mencionadas foi estatisticamente significativa, pelo que a necessidade de uma amostragem superior para confirmação destes pressupostos se mantém.

3.2.4 Associação com outros sinais clínicos associados à infecção por FeLV

Está descrita uma prevalência de FeLV de 1,0% a 8,0% em gatos errantes saudáveis, e até 21,0% em animais com alterações clínicas (Hartmann, 2006).

O PIF, infecções respiratórias, FIV, *Mycoplasma* spp. e estomatite representam 15% das alterações associadas à infecção por FeLV (Hartmann, 2006; Lutz et al., 2009).

A infecção por FeLV poderá também manifestar-se ao nível da derme e articulações (Gross, Clark, Hargis, Head & Hainesh, 1993; Favrot et al., 2005; Gross, Ihrke, Walde & Affolter, 2005; Hartmann, 2006; Lutz et al., 2009) sem que nenhuma alteração cutânea ou locomotora tivesse sido identificada nos animais diagnosticados com a infecção, no presente estudo.

Uma linfadenopatia periférica, por vezes descrita em animais FeLV-positivos (Moore, Emerson, Cotter & DeLellis, 1986; Lutz et al., 2009), foi observada em 40,0% (2/5) dos animais infectados por este agente.

As alterações neurológicas resultantes da infecção, como anisocoria, midríase, síndrome de *Horner*, incontinência urinária, vocalização anormal, hiperestesia e paresia que evolui para paralisia, não foram avaliadas na amostra em estudo (Hartmann, 2006; Lutz et al., 2009).

Outras alterações clínicas geralmente associadas a este agente, como linfoma, atrofia do timo, glomerulonefrite, enterite crónica ou alterações reprodutivas (Hardy et al., 1976; Lutz et al., 2009; Akhtardanesh et al., 2010), não foram avaliadas por questões monetárias e/ou por características inerentes à amostra populacional em estudo.

A nível hematológico seria espectável a detecção de anemia, linfopenia, neutropenia e trombocitopenia (Grant et al., 1980; Gleich & Hartmann, 2009; Lutz et al., 2009; Akhtardanesh et al., 2010). Num estudo elaborado por Akhtardanesh et al. (2010) observou-se que os animais com anemia têm 6,6 vezes mais probabilidade de ter um diagnóstico positivo a FeLV. No presente estudo, apenas um dos animais infectados apresentou uma anemia ligeira (contagem de eritrócitos de 4,8 M/ μ L, valores de referência: 5-11 M/ μ L; hemoglobina de 7,8 g/dL em 8,0-15,0 g/dL), macrocítica (volume corpuscular médio (VCM) de 56,9 fL em 39,0-52,0 fL) e hipocrómica (concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) 28,6 g/dL em 30,0-37,0 g/dL). Uma vez que o animal se apresentava ainda uma desidratação acentuada, assume-se que a anemia esteja subestimada por hemoconcentração.

Uma análise bioquímica sanguínea poderá revelar aumento das enzimas hepáticas e da bilirrubina sérica (Costa & Norsworthy, 2011). Apesar de nenhum destes parâmetros ter sido avaliado na amostra populacional em estudo, nenhum dos animais se apresentava icterício aquando do exame físico.

3.3 Calicivírus Felino

3.3.1 Prevalência na amostra

Ao longo dos últimos anos, são vários os estudos que demonstram que a prevalência deste vírus é bastante variável entre populações distintas.

Num estudo realizado por Bannasch & Foley (2005), em que foram recolhidas 573 amostras da orofaringe de animais de oito gatis distintos, observaram-se prevalências de FCV entre 0,0-67,0%, detectado por isolamento viral. Utilizando a mesma metodologia de diagnóstico, Binns et al. (2000), detectaram a presença de FCV em 26,0% dos 622 animais testados. Ainda no Reino Unido, Coyne et al., (2006a), observaram que a prevalência deste agente em cinco populações de felinos domésticos foi de 0,0% a 91,0%, com uma média individual de 6,0% a 75,0% por gatil.

Zicola, Saegerman, Quatpers, Viandier & Thiry (2009), testaram 299 animais, em que o vírus foi detectado por RT-PCR em zaragatoas orofaríngeas, e obtiveram uma prevalência de 33,1%. Já no estudo de Kang & Park (2008), nenhum dos 78 animais testados por RT-PCR, revelou presença do vírus ao nível da orofaringe. Estes dois ensaios, por utilizarem a mesma metodologia de diagnóstico, serão então aqueles em que o modelo experimental mais se aproxima do presente estudo, permitindo assim estabelecer uma comparação entre os resultados obtidos. A amostra em estudo revelou uma prevalência de 26,0% (13/50) para o agente em questão (tabela 3), ligeiramente inferior à observada por Zicola et al. (2009), sendo que ambos apresentam uma prevalência de FCV, claramente superior à obtida por Kang & Park (2008). Contudo, o tamanho das amostras é, de facto, bastante diferente, o que deixa em aberto a possibilidade de a prevalência obtida no presente estudo poder sofrer alterações, caso se aumentasse a amostragem.

A prevalência observada poderá, no entanto, estar subestimada por diversos factores, como a presença de Ac's no fluído extra-celular capazes de inibir a replicação viral *in vitro*, ou de ribonucleases nas secreções das mucosas que induzem a degradação do ARN viral, a acrescentar àqueles já mencionados no capítulo de resultados (Marsilio, Di Martino, Decaro & Buonavoglia, 2005; Radford et al., 2009; Norsworthy, 2011). Por outro lado, devido à excreção intermitente observada em animais portadores crónicos, um resultado negativo não indica que o animal está livre da infecção, pois tal só ocorre quando se obtêm três resultados negativos durante três semanas consecutivas (Ferocada, 2008). Contudo, será

de referir ainda, que os portadores crónicos assintomáticos, são considerados falsos positivos (Ferocada, 2008).

Como se pode observar no gráfico 1, a proporção de animais com idade entre 1 a 3 anos afectados pelo FCV é inferior ao número de animais infectados com mais de 8 anos, com prevalências de 29,4% (5/17; $p = 0,741$) e 40,0% (2/5; $p = 0,595$), respectivamente. Estes resultados, apesar de não serem estatisticamente significativos, contrariam a informação obtida em estudos anteriores, em que os animais mais jovens são mais afectados por este agente (Pedersen et al., 2004; Richards et al., 2006; Radford et al., 2007; Radford et al., 2009; Norsworthy, 2011).

A influência da idade na excreção crónica de FCV, foi também observada num estudo Coyne et al. (2006a), em que os animais com mais de 3 anos de idade tinham menos probabilidade de excretar o vírus, do que os animais com idade inferior a 3 anos. Considerando que o RT-PCR convencional para FCV detecta Ag's, pode-se concluir que 29,4% (5/17) dos animais até 3 anos estavam em fase activa de excreção viral, enquanto que nas restantes classes a prevalência de animais que estavam a excretar o agente no momento de colheita da amostra foi 21,0% (4/19) nos animais com 4 a 5 anos, 0,0% nos três animais com 6 a 7 anos, e 40,0% (2/5) nos felinos com mais de 8 anos. Pode-se então concluir que o grupo de animais com idade superior a 8 anos incluía, proporcionalmente, mais animais a excretar FCV que o grupo de animais com idade até 3 anos, o que, apesar de não ser estatisticamente significativo, não se coaduna com o estudo referido. No entanto, alguns autores referem que, por compromisso do sistema imunitário, 15-20% dos animais infectados continuam a excretar o vírus a longo prazo, sendo considerados portadores crónicos (Gaskell et al., 2004; Coyne et al., 2007; Radford et al., 2007; Ferocada, 2008), o que poderá explicar a elevada prevalência de FCV no grupo de animais mais velhos.

No que diz respeito ao sexo dos animais em que foi detectada a presença FCV (gráfico 2), 53,8% eram machos e 46,2% eram fêmeas, pelo que esta variável não parece ter influenciado a susceptibilidade à infecção, dos animais que constituem a amostra.

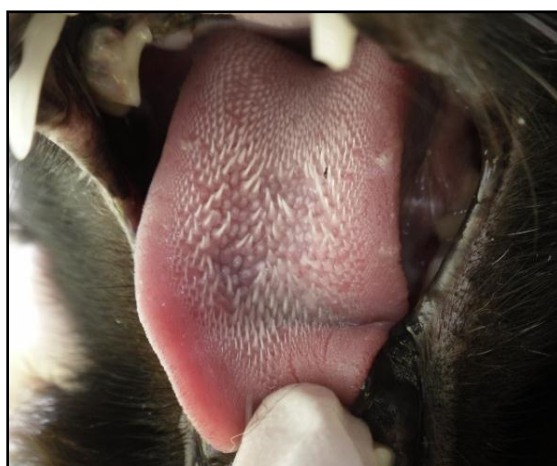
3.3.2 Associação com sinais clínicos associados à GECF

A gravidade dos sinais clínicos apresentados pelos animais infectados com FCV está relacionada com a estirpe infectante, a via e dose de exposição ao agente, a idade, a maturidade imunitária e o estatuto vacinal do animal, assim como a presença concomitante de outras doenças (Pesavento et al., 2008; Ferocada, 2008).

Como se pode observar na tabela 4, a prevalência de animais positivos a FCV que desenvolveram úlceras linguais foi de 46,2% (6/13; $p = 0,055$), o que se revelou bastante superior aos resultados obtidos por Zicola et al. (2009), em que apenas 5,0% dos animais infectados desenvolveram lesões ulcerativas. No ensaio preconizado por Binns et al. (2000), apenas 4,9% dos animais com ulceração oral eram positivos a FCV, o que contrasta,

claramente com a proporção observada na presente estudo, em que 50,0% dos animais com esta lesão estavam infectados com o vírus. Observando os resultados obtidos nos animais com co-infecção por FCV-FIV, pode-se concluir que todos os animais apresentavam úlceras ao nível da língua ($p = 0,011$), e na infecção por FCV e FeLV, 66,7% (2/3) tinham alterações ulcerativas na língua, no momento do exame físico. A infecção por vírus imunossupressores parece, desta forma, aumentar a manifestação clínica de úlceras linguais, comparativamente aos animais infectados apenas por FCV.

Figura 18. Ulceração lingual de felino infectado com FCV e FIV. (Fonte: original).



A presença de estomatite foi estatisticamente significativa, tanto nos animais com FCV (69,2%; $p = 0,006$), como nos co-infectados com FIV ou FeLV, em que todos apresentavam estomatite ($p = 0,042$) (tabela 4), pelo que se conclui que a presença dos retrovírus poderá aumentar a manifestação clínica de estomatite, quando em comparação com os animais infectados apenas com FCV. Num estudo de Quimby et al. (2008), em nenhum dos nove animais que apresentavam estomatite foi detectada a presença de FCV, por PCR de zaragatoas orofaríngeas, sendo que, no entanto, todos apresentavam Ac's anti-FCV, detectados por ELISA.

No que diz respeito à gengivite de grau 2 ou 3, 46,2% (6/13) dos animais com FCV apresentavam esta alteração ($p = 0,055$) (tabela 4), o que se aproxima dos resultados observados por Zicola et al. (2009), em que a prevalência foi de 41,4%. Nos animais com co-infecção por FIV ou FeLV, apenas 33,3% estavam afectados. A gengivite parece ser então, dentro das alterações clínicas descritas como decorrentes da infecção por FCV, a menos influenciável pela presença de vírus imunossupressores como FIV ou FeLV. Um estudo de Waters, Hopper, Gruffydd-Jones & Harbour (1993), constatou, tal como esperado, que os animais co-infectados com FCV e FIV, apresentavam gengivite mais grave.

Figura 19 e 20. Felino infectado com FCV e FIV apresentando estomatite grave e gengivite de grau 3. (Fonte: original).



Figura 19.



Figura 20.

Figura 21. Ulceração lingual, gengivite de grau 2 e estomatite grave num felino infectado por FCV, FIV e FeLV. (Fonte: original).



Como é possível verificar, apesar de, de acordo com a maioria dos autores as úlceras, geralmente no bordo da língua, serem a lesão mais característica da infecção por FCV na fase aguda (Quinn et al., 2002b; Gaskell et al., 2004; Radford et al., 2007; Pesavento et al., 2008; Radford et al., 2009), a estomatite foi a alteração clínica apresentada por um maior número de animais.

Num estudo efectuado por Dowers et al. (2010) no EUA, foi detectada a presença de FCV em 40,5% das biópsias orais de animais com GECE, enquanto que nenhum dos animais de controlo revelou a presença deste vírus ($p = 0,0006$). Resultados semelhantes foram obtidos por Belgard et al. (2010), na Alemanha, em que a prevalência foi de 53,8% ($p < 0,001$) para a associação descrita.

No presente estudo, todos os animais positivos a FCV ($n=13$) apresentavam, pelo menos, uma alteração clínica ao nível da cavidade oral, isto é, gengivite de grau igual ou superior a 2, úlceras linguais ou estomatite (tabela 4). Todas estas associações foram estatisticamente

significativas, tal como a presença de estomatite na co-infecção por FCV e FIV, e FCV e FeLV. Por outro lado, num estudo de Addie, Radford, Yam & Taylor (2003), observou-se que a paragem da excreção de FCV foi coincidente com a resolução dos sinais clínicos, em animais com GECF. Comparando os resultados obtidos nos diferentes estudos, a informação obtida sugere uma forte associação entre a presença do vírus e o desenvolvimento de GECF. Contudo, a difícil reprodutibilidade desta associação a nível experimental, indica que poderá haver outros factores concorrentes com a infecção por este agente na etiologia da doença (Knowles et al., 1991; Pesavento et al., 2008; Quimby et al., 2008).

Figura 22 e 23. Felino infectado com FCV e FHV-1 manifestando gengivite de grau 3 (figura 22) e estomatite proliferativa grave (figura 23). (Fonte: original).



Figura 22.



Figura 23.

3.3.3 Associação com sinais clínicos associados à DRF

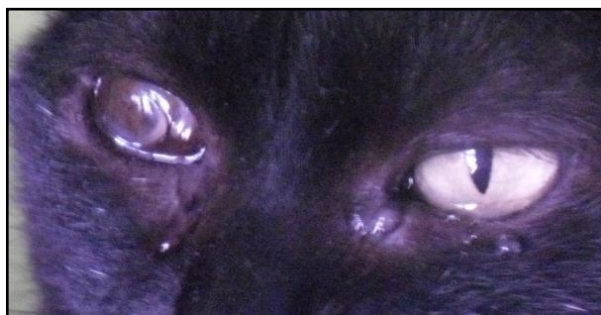
O corrimento nasal e as alterações respiratórias superiores, por vezes manifestados em simultâneo, são também alterações clínicas associadas à infecção por FCV, tal como a conjuntivite e o corrimento ocular (Quinn et al., 2002b; Pesavento et al., 2004; Pesavento et al., 2008; Radford et al., 2009; Norsworthy, 2011).

A conjuntivite foi observada em 7,7% (1/13) dos animais positivos a FCV, mas nenhum animal co-infectado com FCV e FIV ou FeLV manifestava estas alterações (tabela 5). Cai et al. (2002) e Zicola et al. (2009), utilizando a mesma metodologia de diagnóstico que o presente estudo, observaram, respectivamente, que 0,0% e 3,0% dos animais com conjuntivite eram efectivamente positivos a FCV, sendo que na amostra em estudo se obteve uma prevalência de 20,0%, portanto, bastante superior. No ensaio de Binns et al. (2000), a prevalência observada foi de 17,3%, o que se aproxima mais dos resultados obtidos no presente estudo, sendo que, no entanto, uma vez que neste caso o agente foi

identificado por isolamento viral e não por RT-PCR, não é correcto fazer uma analogia entre os dois resultados.

O corrimento ocular foi observado em 23,1% dos animais infectados por FCV, e 33,3% dos felinos com co-infecção por FCV-FIV, sendo que nenhum dos três animais co-infectados por FCV-FelV tinha corrimento ocular evidente (tabela 5). A presença de FIV parece, deste modo, ser um factor predisponente para a manifestação de corrimento ocular. Binns et al. (2000), observaram que de 30,3% dos animais com corrimento ocular eram positivos ao FCV, o que é ligeiramente superior à prevalência de 17,6% observada na amostra populacional em estudo.

Figura 24. Simbléfaro (olho direito) e corrimento ocular bilateral em felino diagnosticado com FCV e FIV. (Fonte: original).



Dos animais em que foi observado corrimento nasal, 12,5% (1/8) estavam infectados com FCV (tabela 5), o que se revelou bastante similar à prevalência de 11,1%, observada no já referido estudo de Zicola et al. (2009). No estudo de Binns et al. (2000), esta prevalência foi ligeiramente superior, pois constatou-se que 27,7% dos animais com corrimento nasal eram FCV-positivos.

Ao exame físico, nenhum animal infectado por FCV, com ou sem infecção subjacente por FIV ou FelV, manifestava alterações respiratórias superiores (tabela 5), o que contrasta com os resultados obtidos por Binns et al. (2000), em que 11,1% dos animais com dispneia eram positivos ao FCV.

Nos animais sem nenhum dos sinais clínicos de DRF acima discutidos, observou-se que 33,3% (10/30) estavam infectados com FCV, assim como 15,0% (3/20) dos animais com pelo menos um destes sinais (tabela 5). Num estudo efectuado por Helps et al. (2005), ao nível de vários gatis da Europa, em que a presença de FCV em animais com DRF foi 47,0%, e 29,0% nos animais sem sintomatologia respiratória, num de total de 1748 amostras testadas por PCR. Num estudo de Binns et al. (2000), 21,0% dos animais saudáveis eram positivos a FCV, comparativamente aos 33,0% de animais infectados e com sintomatologia. Prevalências bastante mais baixas foram observadas por Cai et al. (2002), em que apenas 7,1% dos animais com DRF eram positivos a FCV. Comparando os resultados acima

apresentados, pode-se então concluir que, nos animais sem DRF a prevalência de FCV não varia significativamente, mas pelo contrário, nos animais com manifestação clínica de DRF, a prevalência da infecção por FCV é bastante variável.

Por outro lado, a co-infecção FCV-FeLV não parece ser uma associação de risco para o desenvolvimento de DRF.

3.3.4 Associação com outros sinais clínicos associados à infecção por FCV

Estão ainda descritos outros sinais clínicos inerentes à infecção por FCV, tais como febre, espirros e anorexia (Quinn et al., 2002b; Pesavento et al., 2004; Pesavento et al., 2008; Radford et al., 2009; Norsworthy, 2011), mas que devido ao facto de os animais em estudo pertencerem a uma associação, sendo como tal pouco vigiados, não foi possível recolher informação a este nível.

Ao exame físico não foram observadas alterações hemostáticas primárias, como petéquias, equimoses, epistaxis ou melena, nem claudicação, pelo que se excluiu a possibilidade de sinovite por FCV (Radford et al., 2007; Radford et al., 2009; Pesavento et al., 2008).

A possibilidade de infecção pela variante FCV-VS foi também excluída, uma vez que não foram observadas alterações como edema subcutâneo, alopecia e ulceração do nariz, lábios, orelhas e almofadas plantares e icterícia (Pedersen et al., 2000; Pesavento et al., 2004; Coyne et al., 2006b; Foley, Hurley, Pesavento, Poland & Pedersen, 2006; Radford et al., 2007; Pesavento et al., 2008; Norsworthy, 2011).

Três dos animais infectados por FCV (23,1%) apresentavam leucocitose com linfocitose ligeira, sendo que um deles apresentava ainda neutrofilia moderada e monocitose ligeira. O stress da manipulação ou a presença de uma neoplasia ou infecção, nomeadamente por FCV (Ferocada, 2008), poderá explicar o aumento da linhagem branca. Nenhum destes animais se encontrava infectado com FIV nem FeLV.

3.4 Herpesvírus Felino tipo 1

3.4.1 Prevalência na amostra

Calcula-se que a prevalência de FHV-1 em animais saudáveis que vivem em ambiente de gatil, na Suécia, Coreia do Sul, EUA, e Europa, esteja entre os 0% e os 63% (Stiles et al., 1997b; Burgess et al., 1999; Pedersen, Sato, Foley & Poland 2004; Helps et al., 2005; Holst, Berndtsson & Englund, 2005; Kang & Park, 2008; Dowers et al., 2010). Estima-se que menos de 1% destes animais excretem activamente o vírus, e que até 20% desenvolvam sintomas relacionados com a infecção (Binns et al., 2000; Thiry et al., 2009).

Em estudos realizados nos EUA, Canadá, Europa e Austrália, entre 0-59% dos animais com alterações clínicas típicas da infecção por FHV-1, estavam efectivamente infectados com

este vírus (Sykes, Allen, Studdert & Browning, 2001; Lommer & Verstraete, 2003; Bannasch & Foley, 2005; Helps et al., 2005; Dowers et al., 2010; Sandmeyer, Waldner, Bauer, Wen & Bienzle, 2010).

Em Portugal foi já efectuado um estudo por Mira (2010), em que foram efectuados esfregaços orofaríngeos seguidos da realização de um PCR em tempo real, em seis animais com alterações oculares, em que 83,3% revelaram a presença do agente. Na amostra do presente estudo, 62% (31/50) dos animais (com e sem sinais oculares) revelaram a presença de FHV-1 (tabela 3). Ambos os estudos contrastam claramente com os resultados obtidos por Binns et al. (2000), em que a presença de herpesvírus foi detectada por isolamento viral em apenas 5% dos 622 animais testados. Esta disparidade de resultados poderá, eventualmente, ser explicada pelas características intrínsecas de cada amostra populacional em estudo, uma vez que no estudo de Mira (2010) todos os animais testados tinham alterações oculares, sendo como tal suspeitos de infecção por FHV-1, enquanto que no estudo preconizado por Binns et al. (2000), os animais tinham proveniências distintas entre si, pelo que este poderá ser um modelo de amostra mais próximo da amostra populacional em estudo, em que os animais foram escolhidos aleatoriamente, independentemente do seu estado clínico ou origem. Por outro lado, o facto de Binns et al. (2000) não terem utilizado o mesmo método de diagnóstico que o presente estudo, não permite fazer uma comparação correcta entre os dois estudos.

Considerando que os animais em estudo não são vacinados para nenhum agente, incluindo FHV-1, e outros factores como o facto de coabitarem, em média, 20 gatos por gatil, de estes terem contacto visual directo com dezenas de canídeos, o fraco enriquecimento ambiental e, eventualmente, o stress induzido pela manipulação por parte de indivíduos estranhos ao seu dia-a-dia para realização deste trabalho, poderão ter desencadeado a reactivação da excreção de eventuais infecções em fase de latência (Hickman et al., 1994; Gaskell et al., 2007; Thiry et al., 2009; Grace, 2011b), o que poderá possivelmente explicar a elevada prevalência obtida. Num estudo de Pedersen et al. (2004) observou-se que quando 4% dos animais que entram num gatil excretam o vírus, uma semana depois, mais de 50% dos animais poderão ter excreção activa de FHV-1. Estes resultados expressam não só a facilidade de disseminação do agente, mas também a influência do stress na reactivação da excreção. Esta foi também demonstrada a nível experimental com administração iatrogénica de glucocorticóides, tendo ocorrido em cerca de 70% dos animais. Também a mudança de ambiente e a lactação, como factores de stress, poderão levar a posterior excreção viral em cerca de 18% e 40% dos animais, respectivamente (Gaskell & Povey, 1977; Hickman et al., 1994; Gaskell et al., 2007; Thiry et al., 2009; Grace, 2011b).

Tal como se pode observar no gráfico 1, o FHV-1 está presente em todas as classes etárias, e é o vírus que apresenta maior prevalência em relação aos restantes agentes sobre os quais este trabalho se foca. Apesar de estes resultados não serem estatisticamente

significativos, são compatíveis com as afirmações de Grace (2011b), que refere que, apesar de o vírus ser mais virulento em animais mais jovens, felinos de todas as idades são susceptíveis ao FHV-1. A classe mais afectada foi a dos “6-7 anos”, em que todos os animais estavam infectados (3/3), tendo os animais com idade entre 1 a 3 anos sido os menos afectados pelo FHV-1 (58,8%; 10/17).

Em relação ao sexo dos animais infectados por este agente (gráfico 2), não se verificou uma diferença significativa uma vez que os machos representam 54,8% dos animais FHV-1-positivos, em comparação aos 45,2% de fêmeas infectadas pelo vírus. Analisando agora os 50 animais da amostra populacional em estudo, conclui-se que os machos (65,4%) foram mais atingidos por este agente que as fêmeas (58,3%), o que contrasta com os resultados descritos por Kang e Park (2008), em que 58,0% dos machos da amostra eram positivos a FHV-1, em comparação com os 68% das fêmeas estavam infectadas com este vírus.

3.4.2 Associação com sinais clínicos associados à GECF

As úlceras linguais foram manifestadas apenas por 12,9% (4/31; $p = 0,038$) dos animais com FHV-1 (tabela 4). Em relação aos animais co-infectados com FHV-1 e FIV ou FeLV, 20,0% (1/5) e 66,7% (2/3), respectivamente, apresentavam esta mesma lesão. Estes dados sugerem que, tal como alguns estudos que indicam (Binns et al., 2000; Lommer & Verstraete, 2003; Gaskell et al., 2006), a presença de úlceras da cavidade oral associada ao FHV-1 por si só, é uma condição pouco frequente, mas que o aumento da manifestação de lesões ulcerativas poderá estar associada à presença de vírus imunossupressores, como FIV ou FeLV.

A presença de estomatite, sinal clínico manifestado por maior número de animais infectados por herpesvírus, foi mais evidente nos animais infectados com FHV-1 e FeLV, uma vez que todos tinham estomatite ($p = 0,042$), comparativamente aos 40,0% e 32,3% de animais infectados com FHV-1 e FIV, e FHV-1, respectivamente (tabela 4). Num estudo de Quimby et al. (2008), dos nove animais que apresentavam estomatite, em nenhum foi detectada a presença de FHV-1 por PCR de zaragatoas orofaríngeas, mas todos apresentavam Ac's anti-FHV-1, detectados por ELISA. Lommer & Verstraete (2003) testaram 25 animais com estomatite para a presença de FHV-1, por isolamento viral, e apenas um animal (4,0%) foi positivo. A maior prevalência de FHV-1 obtida no presente estudo, poderá, eventualmente, ser justificada pelo facto de o PCR em tempo real ser um método mais sensível na detecção de FHV-1, relativamente ao PCR convencional ou ao isolamento viral (Reubel et al., 1993; Stiles et al., 1997a; Sykes et al., 1997; Burgesser et al., 1999; Maggs, 2005; Grace, 2011b). Na amostra em estudo constatou-se que 25,8% dos animais infectados com FHV-1 tinham gengivite de pelo menos grau 2, comparativamente aos 20,0% e 33,3% de animais co-infectados respectivamente com FIV ou FeLV, pelo que a co-infecção com retrovírus parece não influenciar a manifestação deste sinal clínico. Ainda no já referido estudo de Lommer &

Verstraete (2003), observou-se que apenas um dos 24 animais (4,2%) com doença periodontal, isto é, gengivite, era positivo a FHV-1, mas, mais uma vez, a diferença observada nas prevalências obtidas poderá ser justificada pelas metodologias de diagnóstico utilizadas.

Dos 31 animais positivos a FHV-1, 14 (45,2%) não apresentavam nenhum dos sinais clínicos referidos, sendo que 54,8% dos animais infectados manifestavam pelo menos uma das alterações acima analisadas (tabela 4). Os resultados obtidos no presente estudo sugerem, desta forma, que o FHV-1 poderá ter alguma influência no desenvolvimento de GECE, com exceção das úlceras linguais.

Figura 25. Felino infectado com FHV-1, sem alterações da mucosa gengival. (Fonte: original).



Figura 26. Felino infectado com FHV-1, sem alterações na cavidade oral. (Fonte: original).



3.4.3 Associação com sinais clínicos associados à DRF

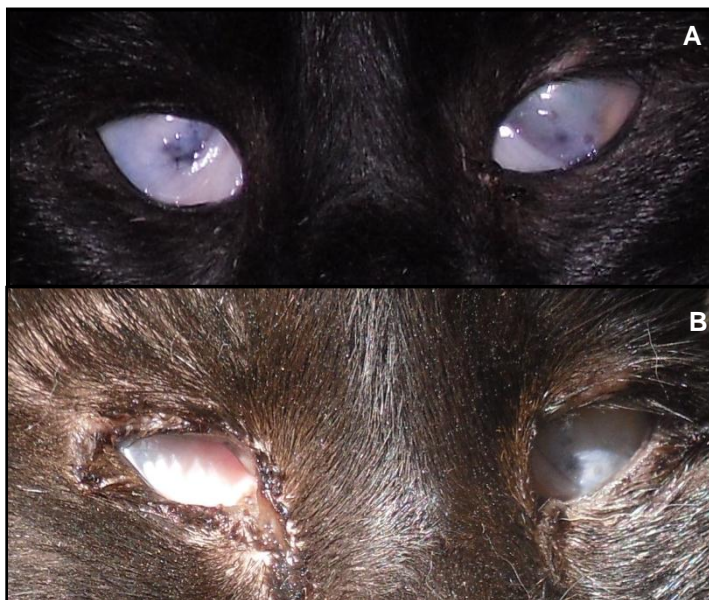
Dos cinco animais que manifestavam conjuntivite, 40,0% (2/5) eram FHV-1-positivos, sendo que nenhum destes animais estava co-infectado com FIV ou FeLV (tabela 5). Binns et al. (2000) obtiveram exactamente a mesma prevalência, na detecção deste agente em zaragatoas orofaríngeas, por isolamento viral. No estudo de Cai et al. (2002), os resultados foram bastante diferentes, pois apenas 5,6% dos dezoito animais com conjuntivite se revelaram positivos na detecção de FHV-1 por PCR.

Na presente amostra, 52,9% (9/17) dos animais com corrimento ocular estavam infectados com FHV-1 (tabela 5), tendo esta prevalência sido bastante próxima (60,0%) da obtida por Binns et al. (2000). Destes animais, apenas 22,2% (2/9) estavam co-infectados com FHV-1 e FIV, sendo que nenhum dos animais com FHV-1 e FeLV tinha corrimento ocular.

Figura 27. Conjuntivite e corrimento ocular purulento bilateral em felino infectado por FHV-1. (Fonte: original).



Figura 28. Queratite grave com ulceração da córnea (A e B) e conjuntivite purulenta bilateral (B), num animal infectado com FHV-1, FCV e FeLV. A - no momento da colheita da amostra; B - cerca de cinco meses após colheita da amostra. (Fonte: original).



Binns et al. (2000) observaram que 50,0% dos animais com corrimento nasal eram positivos a FHV-1, o que se apresenta ligeiramente inferior à prevalência observada nos animais em estudo, em que a prevalência foi de 75,0% (6/8). Relativamente aos animais que estavam ainda co-infectados com FIV ou com FeLV, 16,7% (1/6) tinham também corrimento nasal evidente.

Nenhum dos animais infectados por FHV-1, independentemente da possível infecção subjacente por FIV ou FeLV apresentava alterações das vias respiratórias superiores aquando do exame físico (tabela 5), o que contrasta, com o estudo preconizado por Binns et al. (2000), em que 20,0% dos animais FHV-1-positivos apresentavam dispneia.

Da totalidade dos animais que não apresentaram alterações oculares (corrimento e/ou conjuntivite) nem respiratórias (corrimento nasal e/ou alterações respiratórias superiores), 66,7% (20/30) estavam infectados com FHV-1 (tabela 5), o que está de acordo com os

estudos apresentados por Kang & Park (2008), que obteve uma prevalência de 63,0% na mesma associação. No estudo de Binns et al. (2000), apenas 1,0% dos animais saudáveis estava infectado com FHV-1, em comparação com 11,0% dos animais com doença respiratória se revelaram positivos ao agente. Um outro estudo, realizado a nível da Europa, obteve prevalências de herpesvírus de 8,0% em animais saudáveis e 16,0% em animais com doença respiratória superior (Helps et al., 2005). Prevalências mais baixas foram obtidas por Cai et al. (2002) em que nenhum dos animais com DRF estava, efectivamente, infectado com FHV-1.

Estes resultados são, como se pode comprovar, bastante variáveis entre populações distintas (Stiles et al., 1997b; Burgess et al., 1999; Helps et al., 2005).

Estudos prévios (Murphy et al., 1999; Maggs, 2005; Gaskell et al., 2007) apontam a conjuntivite e rinite como sequelas comuns da infecção por FHV-1. Contudo, como referido anteriormente, apenas 6,4% (2/31) dos animais apresentavam conjuntivite, 29% (9/31) tinham corrimento ocular, e nenhum animal revelou alterações respiratórias superiores (tabela 5). Com excepção dos animais que apresentavam corrimento nasal, em que 75% (6/8) eram positivos para o FHV-1 (tabela 5), a baixa prevalência obtida para animais infectados com FHV-1 com as alterações referidas, poder-se-á eventualmente justificar pelo facto de a amostra ter sido colhida ao nível da orofaringe, o que poderá fazer com que o número de animais infectados por FHV-1 seja subestimado, sobretudo naqueles com sintomatologia ocular. Por outro lado, apenas os animais em fase de excreção activa foram diagnosticados com a presença do vírus, o que deixa em aberto a possibilidade de terem ocorrido falsos negativos nos animais em que o vírus se encontrava em latência.

Apesar de nenhum dos resultados previamente discutidos ser estatisticamente significativo, a presença de FIV ou FeLV não demonstrou ter grande influência no aumento da manifestação dos sinais clínicos típicos da DRF, com a eventual excepção da conjuntivite, que foi, proporcionalmente, observada num maior número de animais co-infectados com FHV-1 e FIV.

3.4.4 Associação com outros sinais clínicos associados à infecção por FHV-1

Um dos animais em estudo apresentava um simbléfaro unilateral, sem que, no entanto, tivesse sido detectada a presença de FHV-1 nesse animal. Uma vez que esta alteração é típica da infecção por este agente (Maggs, 2005; Reinstein & Davidson, 2011), há a possibilidade de o animal estar de facto infectado com FHV-1, mas encontrar-se em fase latente da infecção.

Não foi possível avaliar a presença de úlceras dendríticas na córnea (Murphy et al., 1999; Crispin, 2002; Maggs, 2005; Gaskell et al., 2007; Sila & Davidson, 2011), assim como outros sinais clínicos tais como febre, depressão, anorexia, espirros e tosse (Hoover et al., 1970;

Stiles et al., 1997b; Murphy et al., 1999; Stiles, 2003; Maggs, 2005; Gaskell et al., 2007; Thiry et al., 2009; Grace, 2011b).

Não foi observada dermatite facial, que engloba geralmente a região das narinas, dorso do nariz e região periocular, e se apresenta sob a forma de vesículas que evoluem para úlceras, com inflamação e formação de placas ou nódulos, assim como eventuais alterações neurológicas (Hargis & Ginn, 1999; Hargis, Ginn, Mansell & Garber, 1999; Murphy et al., 1999; Thiry et al., 2009; Gould, 2011; Rees, 2011).

3.5 *Candida* spp.

3.5.1 Prevalência na amostra

Apesar de cada género e espécie exibir um pH ótimo para o seu desenvolvimento, os fungos desenvolvem-se, de um modo geral, em pH ácido, pelo que, considerando que o pH da boca dos felinos é entre oito e nove, não seria de esperar o seu isolamento na cavidade oral destes animais (Robertson, Taylor & Sear, 2003).

No entanto, na amostra em estudo obteve-se uma prevalência de 10% (IC 95% [4,3 - 21,4]) (tabela 3) no isolamento de *Candida* spp. na orofaringe, o que supera a prevalência descrita por Sierra et al. (2000) em que 5,8% dos 85 felinos estudados revelaram a presença de *Candida* spp., nomeadamente *C. albicans*, na mucosa rectal e orofaríngea. Por outro lado, em humanos, sabe-se que *C. albicans* pode estar presente na cavidade oral de até 80% dos indivíduos saudáveis (Williams & Lewis, 2011), o que torna curioso o facto de não ter sido isolada nenhuma levedura deste género nos animais em estudo, o que pode, contudo, dever-se simplesmente ao reduzido tamanho da amostra.

Dos cinco animais que foi isolada *Candida* spp., dois estavam co-infectados com FIV e outro com FeLV. Contudo, apesar de 60% destes animais estarem simultaneamente infectados com um retrovírus, os resultados não são estatisticamente significativos, pelo que nada se pode concluir acerca da influência destes vírus na infecção por *Candida* spp.. No estudo de Sierra et al. (2000) a infecção por FIV ou FeLV não revelou ser um factor predisponente à infecção por estas leveduras, contrariamente ao que se sucedeu no estudo de Mancianti, Giannelli, Bendinelli & Poli (1992), em que *C. albicans* foi maioritariamente isolada na orofaringe de felinos FIV positivos.

3.5.2 Associação com sinais clínicos associados à GECF

A nível da cavidade oral têm sido descritas lesões ulcerativas na mucosa, língua e junções mucocutâneas, com subsequente dor, halitose, disfagia/anorexia, associadas à presença de *Candida* spp. (Román et al., 1998; Biberstein, 2003).

O animal infectado com *C. parapsilosis* apresentava apenas uma gengivite de grau 1, não tendo sido observadas lesões de estomatite nem ulcerações (tabela 4). Apesar de o animal se encontrar também infectado com FHV-1, nenhum destes agentes parece ter tido um efeito patogénico relevante, uma vez que a gengivite de grau 1 é considerada “normal” em felinos.

Por outro lado, dos três animais infectados com *C. silvicola*, apenas um apresentou uma úlcera ao nível da língua, estomatite ligeira e gengivite de grau 1 (tabela 4). Considerando que este animal estava também infectado com FIV e FHV-1, coloca-se então a questão se as alterações manifestadas, na ausência de infecção por FCV, poder-se-ão dever à infecção por *C. silvicola*, FHV-1, ou outros agentes não pesquisados, acrescentando a eventual imunossupressão induzida pelo FIV. No entanto, um dos outros dois animais que apresentavam apenas uma gengivite de grau 1, desprovida de valor clínico, estava, à semelhança do caso anterior, co-infectado com FHV-1 e FIV, o que parece refutar a ideia de que animais infectados com retrovírus desenvolvem, tendencialmente, lesões associadas a agentes comensais da microbiota da sua cavidade oral (Ajello, 1968; Carter & Chengappa, 1993; Quinn et al., 1999; Biberstein, 2003; Greene & Chandler, 2006; Sellon & Hartmann, 2006; Horzinek et al., 2007; Willey et al., 2008).

Quanto ao animal em que foi detectada a presença de *C. valida*, este exibia uma inflamação posterior da cavidade oral (faucite) e gengivite de grau 1 (tabela 4). Uma vez que o animal estava também infectado com FHV-1 e FeLV, fica em aberto qual/ quais os agentes, incluindo outros não pesquisados, que, associados à debilidade inerente à infecção por FeLV, serão responsáveis pelo aparecimento das alterações descritas.

Será ainda importante realçar que nenhum dos sinais clínicos supracitados revelou ter uma associação estatisticamente significativa com a infecção pelo respectivo género de *Candida* spp.

3.5.3 Associação com sinais clínicos associados à DRF

As alterações respiratórias decorrentes da infecção por *C. albicans* têm sido sobretudo associadas à presença de piotórax (McCaw, Franklin, Fales, Stockham & Lattimer, 1984; Quinn et al., 1999; Biberstein, 2003). Nenhum dos animais com infecção por *Candida* spp. apresentava alterações respiratórias aquando do exame físico, e dos cinco animais, apenas dois tinham corrimento nasal evidente (tabela 5). Um dos animais estava infectado com *C. silvicola*, FHV-1 e FIV, e o outro com *C. valida*, FHV-1 e FeLV. Apesar de a etiologia da DRF não estar ainda bem esclarecida, supõe-se que o FHV-1 terá um papel preponderante, sobretudo quando em associação com retrovírus (Hoover et al., 1970; Dawson et al., 1991; Stiles et al., 1997b; Murphy et al., 1999; Gaskell et al., 2006, 2007; Grace, 2011b). Deste modo, um estudo mais aprofundado acerca da infecção por *Candida* spp., e, em particular,

os géneros identificados, será necessário para que se possa avaliar de uma forma mais correcta a influência destas leveduras na DRF.

Também associadas à DRF estão as alterações oculares, em particular a conjuntivite geralmente atribuída à infecção por *Chlamydomphila felis* (Cai et al., 2002; Gaskell et al., 2006). Ao exame físico, nenhum dos cinco animais em que foi isolada *Candida* spp. apresentava conjuntivite, e apenas o animal com *C. parapsilosis* (também infectado com FHV-1), e um dos animais com *C. silvicola* (co-infectado com FHV-1 e FIV), apresentavam corrimento ocular (tabela 5). Estes dados sugerem, então, que estas leveduras poderão ter pouca influência na manifestação de conjuntivite, mas o papel de *C. parapsilosis* e *C. silvicola* no aparecimento de corrimento ocular deverá ser particularmente aprofundado, pois devido ao reduzido tamanho da amostra, nenhum destes dados apresentou uma associação estatisticamente significativa.

Por outro lado, a manifestação ocular de *Candida* spp. foi também constatada por Gerding et al. (1994), num gato imunossuprimido em que foram observadas ulcerações bilaterais da córnea e depósitos de fibrina na câmara anterior. No entanto, nenhuma destas alterações foi identificada nos animais da amostra populacional estudada.

Idealmente, e para uma melhor compreensão do papel do FHV-1 nos casos acima descritos, a presença de corpos de inclusão, típicos da infecção por este agente, deveria ser pesquisada ao nível das lesões encontradas (Hoover et al., 1970; Hargis & Ginn, 1999; Hargis et al., 1999; Lee, Bosward & Norris, 2010).

3.5.4 Associação com outros sinais clínicos associados à infecção por *Candida* spp.

As leveduras do género *Candida* spp., em particular *C. albicans* e *C. parapsilosis*, foram já associadas a infecções do sistema urinário (Fulton & Walker, 1992; Heseltine et al., 2003; Pressler et al., 2003; Greene & Chandler, 2006), e sabe-se ainda que podem também desenvolver-se infecções intestinais (Biberstein, 2003). No entanto, devido às características inerentes à amostra populacional em estudo, não foi possível obter informação acerca da integridade do trato urinário e digestivo nos animais em estudo.

A otite externa também descrita na candidíase (Greene & Chandler, 2006), foi observada apenas no animal infectado com *C. valida*, pelo que uma citologia auricular seria essencial para identificação das leveduras, assim como para o diagnóstico diferencial com outros agentes geralmente associados a otite em felinos.

Apesar de não ter sido encontrada nenhuma descrição de alterações clínicas associadas à presença de *C. parapsilosis* em felinos, foram já observados episódios de endocardite, vaginite, endoftalmite, artrite séptica, peritonite, febre, insuficiência renal e choque séptico em humanos imunossuprimidos, infectados com esta espécie (Weems Jr. et al., 1992; Chermette & Bussi  ras, 1993; Trofa et al., 2008; Nosek et al., 2009). Contudo, devido ao facto de não ter sido possível analisar nenhum destes sinais clínicos nos 50 animais

estudados, não será possível fazer nenhuma analogia com a infecção por este agente em humanos.

Também no que diz respeito à infecção por *C. valida* e *C. silvicola*, não foi encontrada qualquer descrição acerca destas infecções em felinos, pelo que nenhuma informação se obteve acerca das alterações clínicas induzidas por estas leveduras.

A nível hematológico sabe-se que, em casos de infecção sistémica, poderá haver leucopénia e trombocitopénia (Greene & Chandler, 2006), sem que tais alterações tivessem sido identificadas nos animais infectados por *Candida* spp.. Pelo contrário, tanto o animal infectado com *C. parapsilosis* como um dos animais com *C. silvicola*, apresentavam leucocitose com linfocitose e monocitose, que não poderão, provavelmente, ser exclusivamente justificadas pela presença destas leveduras.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar da infecção por FIV, FeLV, FCV e FHV-1 ser bastante comum em felinos, o que se reflecte numa vasta informação acerca destes agentes, persiste ainda uma grande lacuna no que se refere a estudos epidemiológicos destes vírus em Portugal. Por outro lado, ao redigir “feline infection candida spp” e “human infection candida spp” no *Google Académico*, verifica-se que se obtêm, respectivamente, 4.770 e 48.100 resultados. É, portanto, notório que o conhecimento acerca de infecções por *Candida* spp. em medicina veterinária fica, ainda, muito aquém daquilo que se sabe acerca da colonização destas leveduras em humanos. Nesse sentido, os resultados obtidos no presente estudo, ainda que providos de baixo valor estatístico, são uma contribuição valiosa para as Ciências Veterinárias.

Apesar do indispensável apoio financeiro da Virbac e do CIISA, este trabalho deparou-se ainda com algumas limitações, pelo que não foi possível aumentar o tamanho da amostra populacional em estudo, nem o número de colheitas por animal. Por outro lado, houve uma grande falha de informação no que respeita à história pregressa e anamnese dos animais, pois muitos dos animais são, tal como já foi referido, recolhidos na rua ou abandonados na AAAAMoita, e o maneio é efectuado por uma única pessoa e durante um curto período de tempo (cerca de três horas diárias). Também questões relacionadas com a colheita da amostra, como o momento da colheita (período de latência ou fase de excreção/virémia activa), a técnica de colheita (volume amostra, local de colheita), o método de conservação das amostras ou a quantidade de agente veiculado na amostra a testar, ou o processamento (eventuais erros e perdas laboratoriais), poderão ter resultado numa subestimação das prevalências observadas.

Atentando agora nos resultados obtidos, surgem algumas conclusões imediatas: de todos os agentes infecciosos analisados, o FHV-1 foi o mais detectado na amostra populacional em

estudo e, dentro dos retrovírus, o FIV ocorreu num maior número de animais. Das associações propostas para avaliar a relação agente – manifestação clínica, algumas apresentaram, efectivamente, significado estatístico. De referir, a presença de úlceras linguais em animais com FCV / FIV; o desenvolvimento de estomatite nos animais infectados unicamente com FCV, FIV ou FeLV, e nas co-infecções FCV / FIV, FCV / FeLV, e FHV-1 / FeLV; e a ausência de úlceras linguais nos animais com infecção por FHV-1.

A presença de FCV surgiu, então, estatisticamente associada à manifestação das alterações orais, sendo, muito provavelmente, um agente responsável pela GECF. A relação entre a ausência de úlceras linguais e a infecção por FHV-1 (estatisticamente significativa), demonstrou que este agente não será, presumivelmente, a causa primária desta lesão.

No que diz respeito à infecção por *Candida* spp. e, numa perspectiva de futuro, o papel de *C. valida*, *C. parapsilosis* e *C. silvicola* na etiologia, tanto da GECF como da DRF, deverá ser estudado com maior profundidade. Por outro lado, foi altamente sugestivo o papel do FIV e do FeLV, enquanto agentes imunossupressores, na manifestação de estomatite.

Este estudo permitiu ainda concluir que, de facto, o papel dos agentes detectados na etiologia de entidades clínicas como a GECF e a DRF, não estará ainda bem esclarecido.

Pelo exposto, impõe-se a necessidade de avaliação individual dos animais, independentemente da positividade do diagnóstico, no sentido de preservar a sua qualidade de vida e bem-estar, e para que decisões sobre o conflito eutanásia-distanásia não sejam injustamente tomadas.

Por fim, este trabalho pretendeu também sensibilizar donos e indivíduos intervenientes em associações de abrigo animal, para a importância da realização de testes de diagnóstico, e ainda para questões relacionadas com o manejo (higienização, vacinação, desparasitação, etc.) de modo a evitar a disseminação de agentes infecciosos, nos quais se incluem FIV, FeLV, FCV, FHV-1 e *Candida* spp., e consequente manifestação clínica.

BIBLIOGRAFIA

- Ackley, C.D., Yamamoto, J.K., Levy, N., Pedersen, N.C. & Cooper, M. (1990). Immunologic abnormalities in pathogen-free cats experimentally infected with feline immunodeficiency virus. *Journal of Virology*, 64, 5652-5655.
- Addie, D.D., Dennis, J.M., Toth, S., Callanan, J.J., Reid, S. & Jarrett, O. (2000). Long-term impact on a closed household of pet cats of natural infection with feline coronavirus, feline leukaemia virus and feline immunodeficiency virus [abstract]. *Veterinary Record*, 146, 419-424.
- Addie, D.D., Radford, A., Yam, P.S. & Taylor, D.J. (2003). Cessation of feline calicivirus shedding coincident with resolution of chronic gingivostomatitis in a cat [abstract]. *Journal of Small Animal Practice*, 44, 172-6.
- Addie, D., Poulet, H., Golder, M.C., McDonald, M., Brunet, S., Thibault, J-C. & Hosie, M.J. (2008). Ability of antibodies to two new caliciviral vaccine strains to neutralise feline calicivirus isolates from the UK. *Veterinary Record*, 163, 355-357.
- Addie, D. (2008a). Calicivirus felino sistémico virulento. In *Actualización clínica de la infección por calicivirus en gatos*. (93-112). Merial Laboratorios, S. A..
- Addie, D. (2008b). Prevención de la infección por calicivirus felino. In *Actualización clínica de la infección por calicivirus en gatos*. (117-141). Merial Laboratorios, S. A..
- Addie, D. (2010). Feline chronic lymphocytic plasmacytic stomatitis/gingivitis. In *Feline infectious peritonitis and coronavirus website*. Acedido em Jul, 14, 2011, disponível em <http://www.dr-addie.com/stomatitis.html>.
- Ajello, L. (1968). Epidemiology: The ecology and epidemiology of the deep mycoses: transmission mechanisms. In R.D Baker (Ed.) *Systemic Mycoses* (130-143). London: J. & A. Churchill Ltd.
- Akhtardanesh, B., Ziaali, N., Sharifi, H. & Rezaei, S. (2010). Feline immunodeficiency virus, feline leukemia virus and *Toxoplasma gondii* in stray and household cats in Kerman–Iran: seroprevalence and correlation with clinical and laboratory findings. *Research in Veterinary Science*, 89, 306-310.
- Andrew, S.E. (2001). Ocular manifestations of feline herpesvirus, *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 3, 9-16.
- Arai, M., Darman, J., Lewis, A. & Yamamoto, J.K. (2000). The use of human hematopoietic growth factors (rhGM-CSF and rhEPO) as a supportive therapy for FIV-infected cats. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 77, 71-92.
- Arai, M., Earl, D.D. & Yamamoto, J.K. (2002). Is AZT/3TC therapy effective against FIV infection or immunopathogenesis?. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 85, 189-204.

Baker, R.D. (1968). Pathology: organ distribution and pathogenesis in the deep mycoses. In *Systemic Mycoses* (9-25). London, UK: J. & A. Churchill Ltd.

Bannasch, M.J. & Foley, J.E. (2005). Epidemiologic evaluation of multiple respiratory pathogens in cats in animal shelters. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 7, 109-119.

Barr, M. C., Zou, L., Long, F., Hoose, W. A. & Avery, R. J. (1997). Proviral organization and sequence analysis of feline immunodeficiency virus isolated from a pallas' cat. *Virology*, 228, 84-91.

Barrett, R.E., Post, J.E. & Schultz, R.O. (1975). Chronic relapsing stomatitis in a cat associated with feline leukemia virus infection. *Feline Practice*, 5, 34-38.

Beaumont, S.L., Maggs, D.J. & Clarke, H.E. (2003). Effects of bovine lactoferrin on in vitro replication of feline herpesvirus [abstract]. *Veterinary Ophthalmology*, 6, 245-250.

Belgard, S., Truyen, U., Thibault, J.C., Sauter-Louis, C. & Hartmann, K. (2010). Relevance of feline calicivirus, feline immunodeficiency virus, feline leukemia virus, feline herpesvirus and *Bartonella henselae* in cats with chronic gingivostomatitis [abstract]. *Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift*, 123 (9-10), 369-76.

Bendinelli, M., Pistello, M., Lombardi, S., Poli, A., Garzelli, C., Matteucci, D., Ceccherini-Nelli, L., Malvaldi, G. & Tozzini, F. (1995). Feline immunodeficiency virus: an interesting model for AIDS studies and an important cat pathogen. *Clinical Microbiology Review*, 8, 87-112.

Biberstein, E.L. (2003). *Candida*. In D.C. Hirsh & Y.C. Zee (Eds.) *Microbiologia Veterinária* (103-105). Rio de Janeiro; Brazil: Guanabara Koogan S. A.

Bienzle, D., Reggeti, F., Wen, X., Little, S., Hobson, J. & Kruth, S. (2004). The variability of serological and molecular diagnosis of feline immunodeficiency virus infection. *The Canadian Veterinary Journal*, 45, 753-757.

Binns, S.H., Dawson, S., Speakman, A.J., Cuevas, L.E., Gaskell, C.J., Hart, C.A., Morgan, K.L. & Gaskell, R.M. (1999). Prevalence and risk factors for feline *Bordetella bronchiseptica* infection [abstract]. *Veterinary Record*, 144, 575-580.

Binns, S.H., Dawson, S., Speakman, A.J., Cuevas, L.E., Hart, C.A., Gaskell, C.J., Morgan, K.L. & Gaskell, R.M. (2000). A study of feline upper respiratory tract disease with reference to prevalence and risk factors for infection with feline calicivirus and feline herpesvirus, *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 2, 123-133.

Bonassoli, L.A., Bertoli, M. & Svidzinski, T.I.E. (2005) High frequency of *candida parapsilosis* on the hands of healthy hosts. *Journal of Hospital Infection*, 59, 159-162.

Brito, L.R., Guimarães, T., Nucci, M., Rosas, R.C., Almeida, L.P., da Matta, D.A. & Colombo, A.L. (2006). Clinical and microbiological aspects of candidemia due to *Candida parapsilosis* in Brazilian tertiary care hospitals. *Medical Mycology*, 44, 261-266.

Brito, E.H.S., Fontenelle, R.O.S., Brilhante, R.S.N., Cordeiro, R.A., Sidrim, J.J.C. & Rocha, M.F.G. (2009). Candidose na medicina veterinária: um enfoque micológico, clínico e terapêutico. *Ciência Rural*, 39 (9), 2655-2664.

Brown, E.W., Yuhki, N., Packer, C. & O'Brien, S.J. (1994). A lion lentivirus related to feline immunodeficiency virus: epidemiologic and phylogenetic aspects. *Journal of Virology*, 68, 5953-5968.

Burgesser, K.M., Hotaling, S., Schiebel, A., Ashbaugh, S.E., Roberts, S.M. & Collins, J.K. (1999). Comparison of PCR, virus isolation, and indirect fluorescent antibody staining in the detection of naturally occurring feline herpesvirus infections. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 11, 122-126.

Cai, Y., Fukushi, H., Koyasy, S., Kuroda, E., Yamaguchi, T. & Hirai, K. (2002). An etiological investigation of domestic cats with conjunctivitis and upper respiratory tract disease in Japan. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 64 (3), 215-219.

Calderone, R.A. (2002) Introduction and historical perspectives. In *Candida and Candidiasis* (3-13). Washington, USA: ASM Press.

Callanan, J.J., Jones, B.A., Irvine, J., Willett, B.J., McCandlish, J.A. & Jarrett, O. (1996). Histologic classification and immunophenotype of lymphosarcomas in cats with naturally and experimentally acquired feline immunodeficiency virus infections. *Veterinary Pathology*, 33, 264-272.

Cantell, K. & Pyhala, L. (1973). Circulating interferon in rabbits after administration of human interferon by various routes. *Journal of General Virology*, 20, 97-104.

Carlson, J.H. & Scott, F.W. (1978). An immunofluorescence diagnostic test for feline viral rhinotracheitis. *American Journal of Veterinary Research*, 39, 465-467.

Carpenter, M.A., Brown, E.W., Culver, M., Johnson, W.E., Pecon-Slaterry, J., Brousset, D., & O'Brien, S.J. (1996). Genetic and phylogenetic divergence of feline immunodeficiency virus in the puma (*Puma concolor*). *Journal of Virology*, 70, 6682-6693. Acedido em Jul. 3, 2011, disponível em <http://jvi.asm.org/cgi/reprint/70/10/6682>.

Carter, G.R. & Chengappa, M.M. (1993). Microbial diseases in North America. In *Microbial Diseases: a Veterinarian's Guide to Laboratory Diagnosis* (55-57). Iowa, USA: Iowa State University Press.

Cattori, V., Tandon, R., Pepin, A., Lutz, H. & Hofmann-Lehmann, R. (2006). Rapid detection of feline leukemia virus provirus integration into feline genomic DNA. *Molecular and Cellular Probes*, 20, 172-181.

Chermette, R. & Bussi  ras, J. (1993). Candidoses. In *Abr  g   de Parasitologie V  t  rinaire: Mycologie*. Maisons Alfort Cedex, France: Service de Parasitologie, Ecole Nationale V  t  rinaire d'Alfort.

Clark, T. A., Slavinski, S.A., Morgan, J., Lott, T., Arthington-Skaggs, B.A., Brandt, M.E., Webb, R.M., Currier, M., Flowers, R.H., Fridkin, S.K. & Hajjeh, R.A. (2004). Epidemiologic

and molecular characterization of an outbreak of *Candida parapsilosis* bloodstream infections in a community hospital. *Journal of Clinical Microbiology*, 42, 4468-4472.

Clay, S., Maherchandani, S., Malik, Y.S. & Goyal, S.M. (2006). Survival on uncommon fomites of feline calicivirus, a surrogate of noroviruses. *American Journal of Infection Control*, 34, 41-43.

Cleff, M.B., Lima, A.P., Faria, R.O., Meinerz, A.R.M., Antunes, T.A., Araújo, F.B., Nascente, P.S., Nobre, M.O. & Meireles, M.C.A. (2005). Isolation of *Candida* spp from vaginal microbiota of healthy canine females during estrous cycle. *Brazilian Journal of Microbiology*, 36, 201-204.

Cocker, F.M., Newby, T.J., Gaskell, R.M., Evans, P.A., Gaskell, C.J., Stokes, C.R., Harbour, D.A. & Bourne, J.F. (1986). Responses of cats to nasal vaccination with a live, modified feline herpesvirus type 1 [abstract]. *Research in Veterinary Science*, 41, 323-330.

Colombo, A.L., Nucci, M., Park, B.J., Nouer, S.A., Arthington-Skaggs, B., da Matta, D.A., Warnock, D. & Morgan, J. (2006). Epidemiology of candidemia in Brazil: a nationwide sentinel surveillance of candidemia in eleven medical centers. *Journal of Clinical Microbiology*, 44, 2816-2823.

Colombo, A. L., Guimarães, T., Silva, L.R., Monfardini, L.P., Cunha, A.K., Rady, P., Alves, T. & Rosas, R.C. (2007). Prospective observational study of candidemia in Sao Paulo, Brazil: incidence rate, epidemiology, and predictors of mortality. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 28, 570-576.

Como, J.A. & Dismukes, W.E. (1994). Oral azole drugs as systemic antifungal therapy [abstract]. *The New England Journal of Medicine*, 330, 263-72.

Costa, F. V .A. & Norsworthy, G.D. (2011). Feline Leukemia Virus Diseases. In G. D. Norsworthy, M. A. Crystal, S. F. Grace, L. P. Tilley (Eds.) *The Feline Patient* (4th ed.) (184-186). Iowa, USA: Blackwell Science Ltd..

Costa-de-Oliveira, S., Pina-Vaz, C., Mendonça, D. & Rodrigues, A.G. (2008). A first portuguese epidemiological survey of fungaemia in a university hospital. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 27, 365-374.

Cowgill, L.D., James, K.M., Levy, J.K., Browne, J.K., Miller, A., Lobingier, R.T., Egrie, J.C., (1998). Use of recombinant human erythropoietin for management of anemia in dogs and cats with renal failure [abstract]. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 212, 521-528. Acedido em Jul. 15, 2011, disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9491159>

Coyne, K.P., Dawson, S., Radford, A.D, Cripps, P.J., Porter, C.J., McCracken, C.M. & Gaskell, R.M. (2006a). Long-term analysis of feline calicivirus prevalence and viral shedding patterns in naturally infected colonies of domestic cats. *Veterinary Microbiology*, 118, 12-25.

Coyne, K.P., Jones, B.R., Kipar, A., Chantrey, J., Porter, C.J., Barber, P.J., Dawson, S., Gaskell, R.M. & Radford, A.D. (2006b). Lethal outbreak of disease associated with feline calicivirus infection in cats [abstract]. *Veterinary Record*, 158, 544-550.

- Coyne, K.P., Reed, F.C., Porter, C.J., Dawson, S., Gaskell, R.M. & Radford, A.D. (2006c). Recombination of feline calicivirus within an endemically infected cat colony. *Journal of General Virology*, 87, 921-926.
- Crawford, P.C., Slater, M.R. & Levy, J.K. (2005). Accuracy of polymerase chain reaction assays for diagnosis of feline immunodeficiency virus infection in cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 226, 1503-7.
- Crispin, S. (2002). Conditions of the cornea. In S., Petersen-Jones & S., Crispin (Eds.) *BSAVA Manual of Small Animal Ophthalmology* (2nd ed.) (134-154). Gloucester, UK: British Small Animal Veterinary Association.
- Crispin, S. (2005). Feline ophthalmology. In *Notes on Veterinary Ophthalmology*. (177-227). Oxford, UK: Blackwell Science Ltd..
- Dandekar, S., Beebe, A.M., Barlough, J., Phillips, T., Elder, J., Torten, M. & Pedersen, N. (1992). Detection of feline immunodeficiency virus (FIV) nucleic-acids in FIV-seronegative cats. *Journal of Virology*, 66, 4040-4049.
- Dawson, S., Smyth, N.R., Bennett, M., Gaskell, R.M., McCracken, C.M., Brown, A. & Gaskell, C.J. (1991). Effect of primary-stage feline immunodeficiency virus infection on subsequent feline calicivirus vaccination and challenge in cats [abstract]. *AIDS*, 5, 747-750.
- Dawson, D.A., Carman, J., Collins, J., Hill, S. & Lappin, M.R. (1998). Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of feline herpesvirus 1 IgG in serum, aqueous humour, and cerebrospinal fluid. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 10, 315-19.
- Dean, G.A., Reubel, G.H., Moore, P.F. & Pedersen, N.C. (1996). Proviral burden and infection kinetics of feline immunodeficiency virus in lymphocyte subsets of blood and lymph node. *Journal of Virology*, 70, 5165-5169.
- de Mari, K., Maynard, L., Sanquer, A., Lebreux, B. & Eun, H.M. (2004). Therapeutic effects of recombinant feline interferon-omega on feline leukemia virus (FeLV)-infected and FeLV/feline immunodeficiency virus (FIV)-coinfected symptomatic cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 18, 477-482.
- de Parseval, A., Chatterji, U., Sun, P. & Elder, J.H. (2004). Feline immunodeficiency virus targets activated CD4 T cells by using CD134 as a binding receptor. [versão electrónica]. In R. Schekman (Ed.) *Proceedings of the National Academy of Science*, 101, 13044-13049. Acedido em Jul. 6, 2011, disponível em <http://www.pnas.org/content/101/35/13044.full.pdf+html>
- del Fierro, G.M., Meers, J., Thomas, J., Chadwick, B., Park, H.S. & Robinson, W.F. (1995). Quantification of lymphadenopathy in experimentally induced feline immunodeficiency virus infection in domestic cats. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 46, 3-12.
- Dinnage, J.D., Scarlett, J.M. & Richards, J.R. (2009). Descriptive epidemiology of feline upper respiratory tract disease in an animal shelter, *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11, 816-825.

- Douglas, L. J. (2003). *Candida* biofilms and their role in infection. *Trends in Microbiology*, 11, 30-36.
- Doultree, J.C., Druce, J.D., Birch, C.J., Bowden, D.S. & Marshall, J.A. (1999) Inactivation of feline calicivirus, a Norwalk virus surrogate [abstract]. *Journal of Hospital Infection*, 41, 51-7.
- Dowers, K.L., Hawley, J.R., Brewer, M.M., Morris, A.K., Radecki, S.V. & Lappin, M.R. (2010). Association of *Bartonella* species, feline calicivirus, and feline herpesvirus 1 infection with gingivostomatitis in cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 12, 314-321.
- Drazenovich, T.L., Fascetti, A.J., Westermeyer, H.D., Sykes, J.E., Bannasch, M.J., Kass, P.H., Hurley, K.F. & Maggs, D.J. (2009). Effects of dietary lysine supplementation on upper respiratory and ocular disease and detection of infectious organisms in cats within an animal shelter. *American Journal of Veterinary Research*, 70, 1391-400.
- Drouhet, E. (1968). Therapy: some biological activities of antifungal antibiotics and their mode of action. In R.D. Baker (Ed.) *Systemic Mycoses* (206-241). London, UK: J. & A. Churchill Ltd.
- Duarte, E.R., Resende, J.C.P., Rosa, C.A. & Hamdan, J.S. (2001) Prevalence of yeasts and mycelial fungi in bovine parasitic otitis in the State of Minas Gerais, Brazil [abstract]. *Journal of Veterinary Medicine Series B: Infectious Diseases and Veterinary Public Health*, 48 (8), 631-635.
- Duarte, A. & Tavares, L. (2006) Phylogenetic analysis of portuguese feline immunodeficiency virus sequences reveals high genetic diversity. *Veterinary Microbiology*, 114, 25-33.
- Duizer, E., Bijkerk, P., Rockx, B., de Groot, A., Twisk, F. & Koopmans, M. (2004). Inactivation of caliciviruses. *Applied and Environmental Microbiology*, 70, 4538-4543.
- Dunham, S.P. & Graham, E. (2008). Retroviral infections of small animals. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 38, 879-901.
- Egberink, H., Borst, M., Niphuis, H., Balzarini, J., Neu, H., Schellekens, H., de Clercq, E., Horzinek, M & Koolen, M. (1990). Suppression of feline immunodeficiency virus infection in vivo by 9-(2-phosphonomethoxyethyl)adenine. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87 (8), 3087-3091.
- Eleraky, N.Z., Potgieter, L.N. & Kennedy, M.A. (2002). Virucidal efficacy of four new disinfectants [abstract]. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 38, 231-234.
- English, R.V., Johnson, C.M., Gebhard, D.H. & Tompkins, M.B. (1993). In vivo lymphocyte tropism of feline immunodeficiency virus. *Journal of Virology*, 67, 5175-5186.
- Fargeaud, D., Jeannin, C.B., Kato, F. & Chappuis, G. (1984). Biochemical study of the feline herpesvirus 1: identification of glycoproteins by affinity. *Archives of Virology*, 80, 69-82.
- Favrot, C., Wilhelm, S., Grest, P., Meli, M. L., Hofmann-Lehmann, R. & Kipar, A. (2005). Two cases of FeLV-associated dermatoses. *Veterinary Dermatology*, 16, 407-412.

Ferreiro, L., Moreira, J.P.R., Jr., Appelt, C.E., Berg, V., Oliveira, I.A., Muschner, A.C., Reischak, D. & Chermette, R. (2002). Associações entre o isolamento de *Candida albicans* com a infecção pelo vírus da leucemia felina (FeLV), tratamentos com corticosteróides ou antimicrobianos em gatos. *Acta Scientiae Veterinariae*, 30 (3), 179-183.

Fevereiro, M., Roneker, C., Laufs, A., Tavares, L. & de Noronha, F. (1991). Characterization of two monoclonal antibodies against feline immunodeficiency virus gag gene products and their application in an assay to evaluate neutralizing antibody activity. *Journal of General Virology*, 72, 617-622.

Field, H.J., Biswas, S. & Mohammad, I.T. (2006). Herpesvirus latency and therapy - from a veterinary perspective. *Antiviral Research*, 71, 127-133.

Floyd, K., Suter, P.F. & Lutz, H. (1983). Granules of blood eosinophils are stained directly by anti immunoglobulin fluorescein isothiocyanate conjugates [abstract]. *American Journal of Veterinary Research*, 44, 2060-63.

Flynn, J.N., Hanlon, L. & Jarrett, O. (2000). Feline leukaemia virus: protective immunity is mediated by virus-specific cytotoxic T lymphocytes. *Immunology*, 101, 120-125.

Flynn, J.N., Dunham, S.P., Watson, V. & Jarrett, O. (2002). Longitudinal analysis of feline leukemia virus-specific cytotoxic T lymphocytes: correlation with recovery from infection. *Journal of Virology*, 76, 2306-2315.

Foley, J., Hurley, K., Pesavento, P.A., Poland, A. & Pedersen, N.C. (2006). Virulent systemic feline calicivirus infection: local cytokine modulation and contribution of viral mutants. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 8, 55-61.

Forcada, Y. (2008). Actualización clínica de la infección por calicivirus en gatos. In *Actualización clínica de la infección por calicivirus en gatos*. (41-88). Merial Laboratorios, S. A..

Force, R.W. & Nahata, M.C. (1995) Salivary concentrations of ketoconazole and fluconazole: implications for drug efficacy in oropharyngeal and esophageal candidiasis [abstract]. *Ann Pharmacother*, 29, 10-5.

Foy, D.S. & Trepanier, L.A. (2010). Antifungal treatment of small animal veterinary patients. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 40, 1171-1188.

Francis, D.P., Essex, M. & Gayzagian, D. (1979). Feline leukemia virus: survival under home and laboratory conditions. *Journal of Clinical Microbiology*, 9, 154-56.

Frost, P. & Williams, C.A. (1986). Feline dental disease. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 16, 851-873.

Fulleriger, S.L., Seguin, D., Warin, S., Bezille, A., Desterque, C., Arné, P., Chermette, R., Bretagne, S. & Guillot, J. (2006). Evolution of the environmental contamination by thermophilic fungi in a turkey confinement house in France. *Poultry Science*, 85, 1875-1880.

Fulton, R.W. & Burge, L.J. (1985). Susceptibility of feline herpesvirus 1 and a feline calicivirus to feline interferon and recombinant human leukocyte interferons. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 28, 698-699.

Fulton, R.B. Jr. & Walker, R.D. (1992). *Candida albicans* urocystitis in a cat [abstract]. *Journal of the American Medical Association*, 200 (4), 524-6.

Fulton, R., Gasper, P.W., Ogilvie, G.K., Boone, T.C., Dornsife, R.E. (1991). Effect of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor on hematopoiesis in normal cats. *Experimental Hematology*, 19, 759-67.

Gallo, D., Diggs, J.L., Shell, G.R., Dailey, P.J., Hoffman, M.N. & Riggs, J.L. (1986). Comparison of detection of antibody to the acquired immune deficiency syndrome virus by enzyme immunoassay, immunofluorescence, and western blot methods. *Journal of Clinical Microbiology*, 23, 1049-1051.

García-Martos, P., Domínguez I., Marín, P., García-Agudo, R., Aoufi, S. & Mira, J. (2001). Sensibilidad a antifúngicos de levaduras patógenas emergentes. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 19, 249-256.

Gaskell, R.M. & Povey, R.C. (1977). Experimental induction of feline viral rhinotracheitis (FVR) virus re-excretion in FVR-recovered cats [abstract]. *Veterinary Record*, 100, 128-33.

Gaskell, R.M. & Povey, R.C. (1979). The dose response of cats to experimental infection with feline viral rhinotracheitis virus [abstract]. *Journal of Comparative Pathology*, 89, 179-91.

Gaskell, R.M. & Povey, R.C. (1982). Transmission of feline viral rhinotracheitis [abstract]. *Veterinary Record*, 111, 359-362.

Gaskell, R.M., Dennis, P.E., Goddard, L.E., Cocker, F.M. & Wills, J.M. (1985). Isolation of felid herpesvirus 1 from the trigeminal ganglia of latently infected cells, *Journal of General Virology*, 66, 391-394.

Gaskell, R. & Willoughby, K. (1999). Herpesviruses of carnivores. *Veterinary Microbiology*, 69, 73-88.

Gaskell, R.M., Radford, A.D. & Dawson, S. (2004) Feline infectious respiratory disease. In E.A. Chandler, C.J. Gaskell & R.M. Gaskell (Eds.), *Feline Medicine and Therapeutics* (3rd ed.) (577-595). Oxford, USA: Blackwell Science.

Gaskell, R.M., Dawson, S. & Radford, A. (2006). Feline respiratory disease. In Greene, C.E. (ed.) *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. (3th ed.) (145-154). St. Louis, Missouri, USA: Saunders Elsevier.

Gaskell, R.M., Dawson, S., Radford, A. & Thiry, E. (2007). Feline herpesvirus. *Veterinary Research*, 38, 337-54.

George, J.W., Pedersen, N.C., Higgins, J. (1993). The effect of age on the course of experimental feline immunodeficiency virus infection in cats [abstract]. *AIDS Research Human Retroviruses*, 9, 897-905. Acedido em Jul. 8, 2011, disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8257637>.

Gerding, P.A. Jr., Morton, L.D. & Dye, J.A. (1994). Ocular and disseminated candidiasis in an immunosuppressed cat [abstract]. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 204 (10), 1635-1638.

Gleich, S.E. & Hartmann, K. (2009). Hematology and serum biochemistry of feline immunodeficiency virus-infected and feline leukemia virus-infected cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23, 552-558.

Gleich, S.E., Krieger, S. & Hartmann, K. (2009). Prevalence of feline immunodeficiency virus and feline leukaemia virus among client-owned cats and risk factors for infection in Germany. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11, 985-992.

Gomes-Keller, M.A., Gönczi, E., Tandon, R., Riondato, F., Hofmann-Lehmann, R., Meli, M.L. & Lutz, H. (2006a). Detection of feline leukemia virus RNA in saliva from naturally infected cats and correlation of PCR results with those of current diagnostic methods. *Journal of Clinical Microbiology*, 44, 916-922.

Gomes-Keller, M.A., Tandon, R., Gönczi, E., Meli, M.L., Hofmann-Lehmann, R. & Lutz, H. (2006b) Shedding of feline leukemia virus RNA in saliva is a consistent feature in viremic cats. *Veterinary Microbiology*, 112, 11-21.

Gorrel, C. (2004). Oral examination and recording. In *Veterinary Dentistry for the General Practitioner* (47-55). UK: Saunders, Elsevier.

Gould, D. (2011). Feline herpesvirus-1: ocular manifestations, diagnosis and treatment options. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 13, 333-346.

Grace, S. F., (2011a). Feline immunodeficiency virus infection. In G. D. Norsworthy, M. A. Crystal, S. F. Grace, L. P. Tilley (Eds.) *The Feline Patient* (4th ed.) (179-180). Iowa, USA: Blackwell Science Ltd..

Grace, S. F., (2011b). Herpesvirus infection. In G. D. Norsworthy, M. A. Crystal, S. F. Grace, L. P. Tilley (Eds.) *The Feline Patient* (4th ed.) (225-227). Iowa, USA: Blackwell Science Ltd..

Grant, C.K., Essex, M., Gardner, M.B. & Hardy, W.D.Jr. (1980). Natural feline leukemia virus infection and the immune response of cats of different ages. *Cancer Research*, 40, 823-29.

Green, K. Y. (2007). Caliciviridae: the noroviruses. In D. M. Knipe & P. M Howley (Eds.) *Fields Virology* (volume 1) (5th ed.) (949-971). Philadelphia, EUA: Lippincott Williams & Wilkins.

Greene, C.E. & Chandler, F.W. (2006). Candidiasis and rhodotorulosis. In Greene, C.E. (ed.) *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. (3th ed.) (627-633). St. Louis, Missouri; USA: Saunders Elsevier.

Gross, T.L., Clark, E.G., Hargis, A.M., Head, L.L. & Hainesh, D.M. (1993). Giant cell dermatosis in FeLV-positive cats [abstract]. *Veterinary Dermatology*, 4 (3), 117-22.

Gross, T.L., Ihrke, P.J., Walder, E.J. & Affolter, V.K. (2005). Hyperplastic disease of the epidermis. In *Skin Diseases of the Dog and Cat: Clinical and Histopathologic Diagnosis* (2nd ed.) (136-160). Iowa, USA: Blackwell Science

Gudlaugsson, O., Gillespie, S., Lee, K., Vande Berg, J., Hu, J., Messer, S., Herwaldt, L., Pfaller, M. & Diekema, D. (2003). Attributable mortality of nosocomial candidemia, revisited. *Clinical Infectious Diseases*, 37, 1172-1177.

Harbour, D.A., Gunn-Moore, D.A., Gruffydd-Jones, T.J., Caney, S.M., Bradshaw, J., Jarrett, O. & Wiseman, A. (2002). Protection against oronasal challenge with virulent feline leukaemia virus lasts for at least 12 months following a primary course of immunisation with Leukocell 2 vaccine. *Vaccine*, 20, 2866-2872.

Harder, T.C. & Osterhaus, A.D. (1997). Molecular characterization and baculovirus expression of the glycoprotein B of a seal herpesvirus (phocid herpesvirus-1). *Virology*, 227, 343-352.

Hardy, W.D. Jr., Hess, P.W., MacEwen, E.G., McClelland, A.J., Zuckerman, E.E., Essex, M., Cotter, S.M. & Jarrett O. (1976). Biology of feline leukemia virus in the natural environment. *Cancer Research*, 36, 582-88.

Hargis, A.M. & Ginn, P.E. (1999). Feline herpesvirus 1-associated facial and nasal dermatitis and stomatitis in domestic cats [abstract]. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 29, 1281-1290.

Hargis, A.M., Ginn, P.E., Mansell, J.E.K.L. & Garber, R.L. (1999). Ulcerative facial and nasal dermatitis and stomatitis in cats associated with feline herpesvirus-1 [abstract]. *Veterinary Dermatology*, 10, 267-274.

Harley, R., Gruffydd-Jones, T.J. & Day, M.J. (2003). Salivary and serum immunoglobulin levels in cats with chronic gingivostomatitis [abstract]. *Veterinary Record*, 152 (5), 125-9.

Hartley, C. (2010). Treatment of corneal ulcers – what are the medical options? *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 12 (5), 384-397.

Hartmann, K., Donatha, A., Beera, B., Egberinkb, H.F., Horzinekb, M.C., Lutzc, H., Hoffmann-Fezerd, G., Thumd, I. & Thefeld, S. (1992). Use of two virustatica (AZT, PMEA) in the treatment of FIV and of FeLV seropositive cats with clinical symptoms [abstract] *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 35, 167-175. Acedido em Jul. 8, 2011, disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/016524279290129E>.

Hartmann, K., Block, A., Ferk, G., Vollmar, A., Goldberg, M. & Lutz H. (1998). Treatment of feline leukemia virus-infected cats with paramunity inducer. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 65, 267-75.

Hartmann, K. (2006). Feline leukemia virus infection. In Greene, C.E. (ed.) *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. (3th ed.) (105-130). St. Louis, Missouri, USA: Saunders Elsevier.

Hartmann, K., Griessmayr, P., Schulz, B., Greene, C.E., Vidyashankar, A.N., Jarrett, O. & Egberink, H.F. (2007). Quality of different in-clinic test systems for feline immunodeficiency virus and feline leukaemia virus infection. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 9, 439-445.

Hawkins, E.C., Johnson, L., Pedersen, N.C. & Winston, S. (1986). Use of tears for diagnosis of feline leukemia virus infection [abstract]. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 188, 1031-1034.

Hawks, D.M., Legendre, A.M. & Rohrbach, B.W., Bring, R., Chavez, L., Chu, H.J. & Acree, W.M. (1991a). Antibody response of kittens after vaccination followed by exposure to feline leukaemia virus-infected cats [abstract]. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 199 (10), 1463-1469.

Hawks, D.M., Legendre, A.M. & Rohrbach, B.W. (1991b). Comparison of four test kits for feline leukemia virus antigen [abstract]. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 199, 1373-77.

Hayward, J.J., Taylor, J. & Rodrigo, A.G.. (2007) Phylogenetic analysis of feline immunodeficiency virus in feral and companion domestic cats of New Zealand. *Journal of Virology*, 81, 2999-3004.

Healey, K.A.E., Dawson, S., Burrow, R., Cripps, P., Gaskell, C.J., Hart, C. A., Pinchbeck, G.L., Radford, A.D. & Gaskell, R.M. (2007). Prevalence of feline chronic gingivo-stomatitis in first opinion veterinary practice. *Journal of Feline Medicine & Surgery*, 9, 5, 373-381.

Helps, C.R., Lait, P., Damhuis, A., Björnehammar, U., Bolta, D., Brovida, C., Chabanne, L., Egberink, H., Ferrand, G., Fontbonne, A., Pennisi, M.G., Gruffydd-Jones, T., Gunn-Moore, D., Hartmann, K., Lutz, H., Malandain, E., Möstl, K., Stengel, C., Harbour, D.A. & Graat, E.A. (2005). Factors associated with upper respiratory tract disease caused by feline herpes virus, feline calicivirus, *Chlamydophila felis* and *Bordetella bronchiseptica* in cats: experience from 218 European catteries [abstract]. *Veterinary Record*, 159, 669-673.

Heseltine, J.C., Panciera, D.L. & Saunders, G.K. (2003). Systemic candidiasis in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 223, 821-824

Hickman, M.A., Reube, G.H., Hoffman, D.E., Morris, J.G., Rogers, Q.R. & Pedersen, N.C. (1994). An epizootic of feline herpesvirus, type 1 in a large specific pathogen-free cat colony and attempts to eradicate the infection by identification and culling of carriers. *Laboratory Animals*, 28, 320-329.

Hoepelman, I.M. & Dupont, B. (1996). Oral candidiasis: the clinical challenge of resistance and management. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 6, 155-159.

Hofmann-Lehmann, R., Huder, J.B., Gruber, S., Boretti, F., Sigrist, B. & Lutz, H. (2001). Feline leukaemia provirus load during the course of experimental infection and in naturally infected cats. *Journal of General Virology*, 82, 1589-96.

Hofmann-Lehmann R, Tandon R, Boretti FS, Meli, M.L., Willi, B., Cattori, V., Gomes-Keller, M.A., Ossent, P., Golder, M.C., Flynn, J.N. & Lutz, H. (2006). Reassessment of feline leukaemia virus (FeLV) vaccines with novel sensitive molecular assays. *Vaccine*, 24 (8), 1087-94.

Hofmann-Lehmann, R., Cattori, V., Tandon, R., Boretti, F.S., Meli, M.L., Riond, B., Pepin, A.C., Willi, B., Ossent, P. & Lutz H. (2007). Vaccination against the feline leukaemia virus: outcome and response categories and long-term follow-up. *Vaccine*, 25, 5531-39.

Hofmann-Lehmann, R., Cattori, V., Tandon, R., Boretti, F.S., Meli, M.L., Riond, B. & Lutz, H. (2008). How molecular methods change our views of FeLV infection and vaccination. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 123, 119-123.

Hohdatsu, T., Pu, R., Torres, B.A., Trujillo, S., Gardner, M.B. & Yamamoto, J.K.. (1993). Passive antibody protection of cats against feline immunodeficiency virus infection. *Journal of Virology*, 67, 2344-8.

Holst, B.S., Berndtsson, L.T. & Englund, L. (2005). Isolation of feline herpesvirus-1 and feline calicivirus from healthy cats in Swedish breeding catteries. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 7, 325-331.

Hoover, E.A., Rohovsky, M.W. & Griesemer, R.A. (1970). Experimental feline viral rhinotracheitis in the germfree cat, *American Journal of Pathology*, 58, 269-282.

Hoover, E.A. & Griesemer, R.A. (1971). Experimental feline herpesvirus infection in the pregnant cat. *American Journal of Pathology*, 65, 173-188.

Hoover, E.A., Olsen, R.G., Hardy, W.D.Jr., Schaller, J.P. & Mathes, L.E. (1976). Feline leukemia virus infection: age-related variation in response of cats to experimental infection [abstract]. *Journal of the National Cancer Institute*, 57, 365-69.

Hoover, E.A., Mullins, J.I., Chu, H.J. & Wasmoen, T.L. (1996). Efficacy of an inactivated feline leukemia virus vaccine [abstract]. *AIDS Research and Human Retroviruses*, 12, 379-383.

Hosie, M.J., Robertson, C. & Jarrett, O. (1890). Prevalence of feline leukaemia virus and antibodies to feline immunodeficiency virus in cats in the United Kingdom [abstract]. *Veterinary Record*, 125, 293-297.

Hosie, M.J. & Jarrett, O. (1990). Serological responses of cats to feline immunodeficiency virus [abstract]. *AIDS*, 4, 215-220. Acedido em Jul. 6, 2011, disponível em http://journals.lww.com/aidsonline/Abstract/1990/03000/Serological_responses_of_cats_to_feline.6.aspx

Hosie, M.J., Addie, D., Belák, S., Boucraut-Baralon, C., Egberink, H., Frymus, T., Gruffydd-Jones, T., Hartmann, K., Lloret, A., Lutz, H., Marsilio, F., Pennisi, M.G., Radford, A. D., Thiry, E., Truyen, U. & Horzinek, M.C. (2009). ABCD guidelines on feline immunodeficiency virus. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11 (7), 575-584.

Hughes, M.S., Ball, N.W., Love, D.N., Canfield, P.J., Wigney, D.I., Dawson, D., Davis, P.E. & Malik, R., (1999). Disseminated *Mycobacterium genavense* infection in a FIV-positive cat [abstract]. *Journal of Feline Medicine & Surgery*, 1, 23-9. Acedido em Jul. 8, 2011, disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11919012>.

Hurley, K.E., Pesavento, P.A., Pedersen, N.C., Poland, A.M., Wilson, E. & Foley J.E. (2004). An outbreak of virulent systemic feline calicivirus disease. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 224, 241-249.

Hutson, C.A., Rideout, B.A. & Pedersen, N.C. (1991). Neoplasia associated with feline immunodeficiency virus infection in cats of southern California [abstract]. *Journal of the*

American Veterinary Medical Association. 199, 1357-62. Acedido em Jul. 8, 2011, disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1666082>.

Ishida, T., Washizu, T., Toriyabe, K., Motoyoshi, S. & Pedersen, N.C., 1989. Feline immunodeficiency virus (FIV) infection in Japan. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 194, 221-225.

Jacobson, R.H. (1991). How well do serodiagnostic tests predict the infection or disease status of cats?. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 199, 10, 1343-1347.

Jarrett, O., Golder, M.C. & Stewart, M.F. (1982). Detection of transient and persistent feline leukaemia virus infections [abstract]. *Veterinary Record*, 110, 225-228.

Johnson, R.P. & Povey, R.C. (1983). Transfer and decline of maternal antibody to feline calicivirus. *Canadian Veterinary Journal*, 24, 6-9.

Johnson, L.R, Foley, J.E., De Cock, H.E., Clarke, H.E. & Maggs, D.J. (2005). Assessment of infectious organisms associated with chronic rhinosinusitis in cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 227, 579-85

Jordan, H.L., Howard, J., Barr, M.C., Kennedy-Stoskopf, S., Levy, J.K. & Tompkins, W.A. (1998). Feline immunodeficiency virus is shed in semen from experimentally and naturally infected cats [abstract]. *AIDS Research Human Retroviruses*, 14, 1087-1092. Acedido em Jul. 4, 2011, disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9718125>

Kahn, D.E., Hoover, E.A. & Bittle, J.L. (1975). Induction of immunity to feline caliciviral disease. *Infection and Immunity*, 11 (5), 1003-1009.

Kakinuma, S., Motokawa, K., Hohdatsu, T., Yamamoto, J.K., Koyama, H., Hashimoto, H. (1995). Nucleotide sequence of feline immunodeficiency virus: classification of japanese isolates into two subtypes which are distinct from non-japanese subtypes. *Journal of Virology*, 69, 3639-3646.

Kang, B.-T. & Park, H.-M. (2008). Prevalence of feline herpesvirus 1, feline calicivirus and *Chlamydomphila felis* in clinically normal cats at a Korean animal shelter. *Journal of Veterinary Science*, 9 (2), 207-209.

Kann, R.K.C, Kyaw-Tanner, M.T., Seddon, J.M., Lehrbach, P.R., Zwijnenberg, R.J.G. & Meers, J., (2006). Molecular subtyping of feline immunodeficiency virus from domestic cats in Australia. *Australian Veterinary Journal*, 84, 112-116.

Kirpensteijn, J. (2006). Feline injection site-associated sarcoma: is it a reason to critically evaluate our vaccination policies?. *Veterinary Microbiology*, 117 (1), 59-65.

Kivaria, F.M. & Noordhuizen, J.P.T.M. (2007). A retrospective study of the aetiology and temporal distribution of bovine clinical mastitis in smallholder dairy herds in the Dar es Salaam region of Tanzania. *Veterinary Journal*, 173, 617-622.

Knowles, J.O., Gaskell, R.M., Gaskell, C.J., Harvey, C.E. & Lutz, H. (1989). Prevalence of feline calicivirus, feline leukemia virus and antibodies to FIV in cats with chronic stomatitis [abstract]. *Veterinary Record*, 124, 336-338.

Knowles, J.O., McArdle, F., Dawson, S., Carter, S.D., Gaskell, C.J. & Gaskell, R.M. (1991). Studies on the role of feline calicivirus in chronic stomatitis in cats [abstract]. *Veterinary Microbiology*, 27 (3-4), 205-219.

Kossoff, E. H., Buescher, E.S. & Karlowicz, M.G. (1998). Candidemia in a neonatal intensive care unit: trends during fifteen years and clinical features of 111 cases [abstract]. *Pediatric Infectious Diseases Journal*, 17, 504-508.

Kurtzman, C.P. (1984). Hansenula H. et P. Sydow. In N. J. W. Kreger-van Rij (Ed.). *The yeasts: a taxonomic study* (3rd ed.) (165-213). Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Science Publishers

Kusuhara, H., Hohdatsu, T., Okumura, M., Sato, K., Suzuki, Y., Motokawa, K., Gemma, T., Watanabe, R., Huang, C., Arai, S. & Koyama, H. (2005). Dual-subtype vaccine (Fel-O-Vax FIV) protects cats against contact challenge with heterologous subtype B FIV infected cats. *Veterinary Microbiology*, 108, 155-165.

Kuwamura, M., Ide, M., Yamate, J., Shiraishi, Y. & Kotani, T. (2006). Systemic candidiasis in a dog, developing spondylitis. *Journal of Veterinary Medical Science*, 68, 1117-1119.

Lairmore, M.D., (2011). Retroviridae. In N.J MacLachlan & E.J. Dubovi (Eds.) *Fenner's Veterinary Virology* (4th Edition) (242-274). San Diego, CA, USA: Academic Press of Elsevier

Lappin, M.R., Andrews, J., Simpson, D. & Jensen, W.A. (2002). Use of serologic tests to predict resistance to feline herpesvirus 1, feline calicivirus, and feline parvovirus infection in cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 220 (1), 38-42.

Lappin, M.R., Sebring, R.W., Porter, M., Radecki, S.J. & Veir, J. (2006). Effects of a single dose of an intranasal feline herpesvirus 1, calicivirus, and panleukopenia vaccine on clinical signs and virus shedding after challenge with virulent feline herpesvirus 1, *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 8, 158-163.

Lebich, M., Harder, T.C., Frey, H.R., Visser, I.K., Osterhaus, A.D. & Liess, B. (1994). Comparative immunological characterization of type-specific and conserved B-cell epitopes of pinniped, felid and canid herpesviruses, *Archives of Virology* 136, 335-347.

Lee, I.T., Levy, J.K., Gorman, S.P., Crawford, P.C. & Slater, M.R. (2002). Prevalence of feline leukemia virus infection and serum antibodies against feline immunodeficiency virus in unowned free-roaming cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 220, 620-622.

Lee, M., Bosward, K.L. & Norris, J.M. (2010). Immunohistological evaluation of feline herpesvirus-1 infection in feline eosinophilic dermatoses or stomatitis. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 12, 72-79.

- Lennette, E.T., Karpatkin, S. & Levy, J.A. (1987). Indirect immunofluorescence assay for antibodies to human immunodeficiency virus. *Journal of Clinical Microbiology*, 25, 199-202.
- Levy, J., Richards, J., Edwards, D., Elston, T., Hartmann, K., Rodan, I., Thayer, V., Tompkins, M. & Wolf, A. (2001). Feline retrovirus testing and management. American Association of Feline Practitioners/Academy of Feline Medicine: Advisory Panel on Feline Retrovirus Testing and Management. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, 23 (7), 652-657, 592.
- Levy, J.K., Crawford, P.C. & Slater, M.R. (2004) Effect of vaccination against feline immunodeficiency virus on results of serologic testing in cats [abstract]. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 225, 1558-1561.
- Levy, J. K., Scott, H. M., Lachtara, J. L., & Crawford, P. C. (2006). Seroprevalence of feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus infection among cats in North America and risk factors for seropositivity. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 228 (3), 371-376.
- Levy, J.K., Crawford, P.C., Kusuhara, H., Motokawa, K., Gemma, T., Watanabe, R., Arai, S., Bienzle, D. & Hohdatsu, T. (2008a) Differentiation of feline immunodeficiency virus vaccination, infection, or vaccination and infection in cats [abstract]. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22, 330-334.
- Levy, J., Crawford, C., Hartmann, K., Little, S., Sundahl, E., Thayer, V. & Hoffmann-Lehmann, R. (2008b). Feline retrovirus management guidelines. American Association of Feline Practitioners. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 10, 300-316.
- Lim, C.S.-Y., Rosli, R., Seow, H.F. & Chong P.P. (2011). *Candida* and invasive candidiasis: back to basics. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 30.
- Linek, J. (2004). Mycotic endophthalmitis in a dog caused by *Candida albicans* [abstract]. *Veterinary Ophthalmology*, 7, 159-162.
- Little, S., Sears, W., Lachtara, J. & Bienzle, D. (2009). Seroprevalence of feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus infection among cats in Canada. *Canadian Veterinary Journal*, 50, 644-648.
- Lommer, M.J. & Verstraete, F.J.M. (2003). Concurrent oral shedding of feline calicivirus and feline herpesvirus 1 in cats with chronic gingivostomatitis. *Oral Microbiology and Immunology*, 18, 131-134.
- Louwerens, M., London, C.A., Pedersen, N.C. & Lyons, L.A. (2005). Feline lymphoma in the post-feline leukemia virus era. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 19, 329-35.
- Lutz, H., Pedersen, N., Higgins, J., Hubscher, U., Troy, F.A. & Theilen, G.H. (1980). Humoral immune reactivity to feline leukemia virus and associated antigens in cats naturally infected with feline leukemia virus. *Cancer Research*, 40, 3642-51.
- Lutz, H., Pedersen, N.C. & Theilen, G.H. (1983). Course of feline leukemia virus infection and its detection by enzymelinked immunosorbent assay and monoclonal antibodies [abstract]. *American Journal of Veterinary Research*, 44, 2054-2059.

- Lutz, H. & Jarrett, O. (1987). Detection of feline leukemia virus infection in saliva. *Journal of Clinical Microbiology* 25, 827-831.
- Lutz, H., Addie, D., Belák, S., Boucraut-Baralon, C., Egberink, H., Frymus, T., Gruffydd-Jones, T., Hartmann, K., Hosie, M.J., Lloret, A., Marsilio, F., Pennisi, M.G., Radford, A.D., Thiry, E., Truyen, U. & Horzinek, M.C. (2009). Feline leukaemia: ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11, 565-574.
- Lyon, K.F. (2005). Gingivostomatitis [abstract]. *Veterinary Clinics of the North America: Small Animal Practice*, 35 (4), 891-911.
- Mackey, L., Jarrett, W., Jarrett, O. & Laird, H. (1975). Anemia associated with feline leukaemia virus infection in cats [abstract]. *Journal of National Cancer Institute*, 54 (1), 209-17.
- Maggs, D.J., Nasisse, M.P. & Kass, P.H. (2003). Efficacy of oral supplementation with L-lysine in cats latently infected with feline herpesvirus. *American Journal of Veterinary Research*, 64, 37-42.
- Maggs, D.J. & Clarke, H.E. (2004). In vitro efficacy of ganciclovir, cidofovir, penciclovir, foscarnet, idoxuridine, and acyclovir against feline herpesvirus type-1. *American Journal of Veterinary Research*, 65, 399-403.
- Maggs, D.J. & Clarke, H.E. (2005). Relative sensitivity of polymerase chain reaction assays used for detection of feline herpesvirus type 1 DNA in clinical samples and commercial vaccines [abstract]. *American Journal of Veterinary Research*, 66, 1550-1555.
- Maggs, D.J. (2005). Update on pathogenesis, diagnosis, and treatment of feline herpesvirus type 1. *Clinical Techniques on Small Animal Practice*, 20, 94-101.
- Maggs, D.J., Sykes, J.E., Clarke, H.E., Yoo, S.H., Kass, P.H., Lappin, M.R., Rogers, Q.R., Waldron, M.K. & Fascetti, A.J. (2007). Effects of dietary lysine supplementation in cats with enzootic upper respiratory disease. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 9, 97-108.
- Maggs, D.J. (2010). Antiviral therapy for feline herpesvirus infections. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 40, 1055-1062.
- Mahony, J., Rosenthal, K., Chernesky, M., Castriciano, S., Scheid, E., Blajchman, M. & Har, D. (1989). Agreement study between two laboratories of immunofluorescence as a confirmatory test for human immunodeficiency virus type 1 antibody screening. *Journal of Clinical Microbiology*, 27, 1234-1237.
- Mancianti, F., Giannelli, C., Bendinelli, M. & Poli, A. (1992). Mycological findings in feline immunodeficiency virus-infected cats [abstract]. *Medical Mycology*, 30, 257-259.
- Marsilio, F., Di Martino, B., Decaro, N. & Buonavoglia, C. (2005). A novel nested PCR for the diagnosis of calicivirus infections in the cat. *Veterinary Microbiology*, 105, 1-7.
- Martina, B.E., Harder, T.C. & Osterhaus, A.D. (2003). Genetic characterization of the unique short segment of phocid herpesvirus type 1 reveals close relationships among

alphaherpesviruses of hosts of the order carnivora, *Journal of General Virology*, 84, 1427-1430.

Martins, M., Henriques, M., Ribeiro, A.P., Fernandes, R., Gonçalves, V., Seabra, A., Azeredo, J. & Oliveira, R. (2010). Oral *Candida* carriage of patients attending a dental clinic in Braga, Portugal. *Revista Iberoamericana de Micologia*, 27, 119-124.

Maruyama, S., Kabeya, H., Nakao, R., Tanaka, S., Sakai, T., Xuan, X., Katsube, Y. & Mikami, T. (2003). Seroprevalence of *bartonella henselae*, *toxoplasma gondii*, fiv and felv infections in domestic cats in Japan. *Microbiology and Immunology*, 47 (2), 147-53.

McCaw, D., Franklin, R., Fales, W., Stockham, S. & Lattimer, J. (1984). Pyothorax caudex by *candida albicans* in a cat. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 185 (3), 311-312.

Mencke, N., Vobis, M., Mehlhorn, H., D'Haese, J., Rehagen, M., Mangold-Gehring, S. & Truyen, U. (2009). Transmission of feline calicivirus via the cat flea (*Ctenocephalides felis*). *Parasitology Research*, 105, 185-189.

Messer, S.A., Jones, R.N. & Fritsche, T.R. (2006). International surveillance of *Candida* spp. and *Aspergillus* spp.: report from the SENTRY antimicrobial surveillance program. *Journal of Clinical Microbiology*, 44, 1782-1787.

Meyer, S.A., Ahearn, D.G. & Yarrow, D. (1984). *Candida* Berkhout. In N. J. W. Kreger-van Rij (Ed.). *The Yeasts: a Taxonomic Study* (3rd ed.) (585-844). Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Science Publishers.

Miller, R.J., Cairns, J. S., Bridges, S., & Sarver, N. (2000). Human immunodeficiency virus and aids: insights from animal lentiviruses. *Journal of Virology*, 74, 7187-7195.

Mira, A.S.C. (2010). *Utilização do pcr real-time na detecção de herpesvírus felino-1 e chlamydophila felis em gatos com manifestações oculares*. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Técnica de Lisboa.

Moench, T.R., Whaley, K.J., Mandrell, T.D., Bishop, B.D., Witt, C.J. & Cone RA (1993). The cat/feline immunodeficiency virus model for transmucosal transmission of AIDS: nonoxynol-9 contraceptive jelly blocks transmission by an infected cell inoculums [abstract]. In: Jon Cohen (ed.) *Jon Cohen AIDS Research Collection*, 7, 797-802. Acedido em Jul. 4, 2011, disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8395855>

Moore, F.M., Emerson, W.E., Cotter, S.M. & DeLellis, R.A. (1986). Distinctive peripheral lymph node hyperplasia of young cats. *Veterinary Pathology*, 23, 386-91.

Moretti, A. Posteraro, B., Boncio, L., Mechelli, L., De Gasperis, E., Agnetti, F. & Raspa, M. (2004). Diffuse cutaneous candidiasis in a dog. Diagnosis by PCR-REA. *Revista Iberoamericana de Micologia*, 21, 139-142.

Murphy, F.A., Gibbs, E.P.J., Horzinek, M.C. & Studdert, M.J. (1999). *Herpesviridae*. *Veterinary Virology* (3rd ed.) (301-326). San Diego, USA: Academic Press, Elsevier.

Nasisse, M.P., Guy, J.S., Davidson, M.G., Sussman, W. & De Clercq, E. (1989). In vitro susceptibility of feline herpesvirus-1 to vidarabine, idoxuridine, trifluridine, acyclovir, or bromovinyldeoxyuridine [abstract]. *American Journal of Veterinary Research*, 50, 158-160.

Nasisse, M.P., Davis, B.J., Guy, J.S., Davidson, M.G. & Sussman, W. (1992). Isolation of feline herpesvirus 1 from the trigeminal ganglia of acutely and chronically infected cats [abstract]. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 6, 102-103.

Nasisse, M.P., English, R.V., Tompkins, M.B., Guy, J.S. & Sussman, W. (1995). Immunologic, histologic, and virologic features of herpesvirus-induced stromal keratitis in cats [abstract]. *American Journal of Veterinary Research*, 56, 51-55.

Nasisse, M.P., Dorman, D.C., Jamison, K.C., Weigler, B.J., Hawkins, E.C. & Stevens, J.B. (1997). Effects of valacyclovir in cats infected with feline herpesvirus 1 [abstract]. *American Journal of Veterinary Research*, 58, 1141-1144.

Nasisse, M.P., Glover, T.L., Moore, C.P. & Weigler, B.J. (1998). Detection of feline herpesvirus 1 DNA in corneas of cats with eosinophilic keratitis or corneal sequestration [abstract]. *American Journal of Veterinary Research*, 59, 856-58.

Niza, M.M.R.E., Mestrinho, L.A. & Vilela, C.L. (2004). Gengivo-estomatite crónica felina - um desafio clínico. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 99 (551), 127-135.

Norsworthy, G.D. (2011). Calicivirus infection. In G. D. Norsworthy, M. A. Crystal, S. F. Grace, L. P. Tilley (Eds.) *The Feline Patient* (4th ed.) (62-64). Iowa, USA: Blackwell Science Ltd..

Nosek, J., Holesova, Z., Kosa, P., Gacser, A. & Tomaska, L. (2009). Biology and genetics of the pathogenic yeast *Candida parapsilopsis*. *Current Genetics*, 55, 497-509.

Olmsted, R. A., Hirsch, V. M., Purcello, R. H. & Johnson, P. R. (1989). Nucleotide sequence analysis of feline immunodeficiency virus: genome organization and relationship to other lentiviruses [versão electrónica]. In R. Schekman (Ed.) *Proceedings of the National Academy of Science*, 86, 8088-8092.

Olmsted, R.A., Langley, R., Roelke, M.E., Goeken, R.M., Adger-Johnson, D., Goff, J.P., Albert, J.P., Packer, C., Laurenson, M.K., Caro, T.M., Scheepers, L., Wildt, D.E., Bush, M., Martenson, J.S. (1992). Worldwide prevalence of lentivirus infection in wild feline species: epidemiologic and phylogenetic aspects. *Journal of Virology*, 66, 6008-6018.

O'Neil, L.L., Burkhard, M.J., Diehl, L.J. & Hoover, E.A. (1995). Vertical transmission of feline immunodeficiency virus [abstract]. *AIDS Research and Human Retroviruses*, 11, 171-82. Acedido em Jul. 14, 2011, disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7734190>

O'Neil, L.L., Burkhard, M.J. & Hoover, E.A. (1996). Frequent perinatal transmission of feline immunodeficiency virus by chronically infected cats. *Journal of Virology*, 70, 2894-901.

Orr, C.M., Gaskell, C.J. & Gaskell, R.M. (1978). Interaction of a combined feline viral rhinotracheitis-feline calicivirus vaccine and the FVR carrier state [abstract]. *Veterinary Record*, 103, 200-202.

Orr, C.M., Gaskell, C.J. & Gaskell, R.M. (1980). Interaction of an intranasal combined feline viral rhinotracheitis, feline calicivirus vaccine and the FVR carrier state [abstract]. *Veterinary Record*, 106, 164-166.

Pacitti, A.M., Jarrett, O. & Hay, D. (1986). Transmission of feline leukaemia virus in the milk of a non-viraemic cat [abstract]. *Veterinary Record*, 118, 381-84.

Pecoraro, M.R., Tomonaga, K., Miyazawa, T., Kawaguchi, Y., Sugita, S., Tohya, Y., Kai, C., Etcheverrigaray, M.E. & Mikami, T. (1996). Genetic diversity of Argentine isolates of feline immunodeficiency virus. *Journal of General Virology*, 77, 2031-5.

Pedersen, N.C., Ho, E.W., Brown, M.L. & Yamamoto, J.K. (1987). Isolation of a T-lymphotropic virus from domestic cats with an immunodeficiency-like syndrome [abstract]. *Science*, 235, 790-793. Acedido em Jul. 14, 2011, disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3643650>

Pedersen, N.C., Yamamoto, J.K., Ishida, T. & Hansen, H. (1989). Feline immunodeficiency virus infection. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 21, 111-129.

Pedersen, N.C., Elliott, J.B., Glasgow, A., Poland, A. & Keel, K. (2000) An isolated epizootic of hemorrhagic-like fever in cats caused by a novel and highly virulent strain of feline calicivirus, *Veterinary Microbiology*, 73, 281-300.

Pedersen, N.C., Sato, R., Foley, J.E. & Poland, A.M. (2004). Common virus infections in cats, before and after being placed in shelters, with emphasis on feline enteric coronavirus. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 6, 83-8.

Pedretti, E., Passeri, B., Amadori, M., Isola, P., Di Pede, P., Telera, A., Vescovini, R., Quintavalla, F. & Pistello, M. (2006). Low-dose interferon-alpha treatment for feline immunodeficiency virus infection. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 109, 245-254.

Pereira, J.M. & Tavares, L. (2002). In V.F.C. Ferreira & J.C.F. de Sousa (Eds.) *Microbiologia*, vol. 3, 275-313. Lisboa, Portugal: Lidel

Pesavento, P.A., MacLachlan, N.J., Dillard-Telm, L., Grant, C.K. & Hurley, K.F. (2004). Pathologic, immunohistochemical, and electron microscopic findings in naturally occurring virulent systemic feline calicivirus infection in cats, *Veterinary Pathology*, 41, 257-263.

Pesavento, P.A., Chang, K.-O. & Parker, J.S.L. (2008). Molecular virology of feline calicivirus. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 38, 775-786.

Pfaller, M.A., Andes, D., Arendrup, M.C., Diekema, D.J., Espinel-Ingroff, A., Alexander, B.D., Brown, S.D., Chaturvedi, V., Fowler, C.L., Ghannoum, M.A., Johnson, E.M., Knapp, C.C., Motyl, M.R., Ostrosky-Zeichner, L. & Walsh, T.J. (2011). Clinical breakpoints for voriconazole and *Candida* spp. revisited: review of microbiologic, molecular, pharmacodynamic, and clinical data as they pertain to the development of species-specific interpretive criteria. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 70, 330-343

Pinches, M.D., Diesel, G., Helps, C.R., Tasker, S., Egan, K. & Gruffydd-Jones, T.J. (2007). An update on FIV and FeLV test performance using a Bayesian statistical approach. *Veterinary Clinical Pathology*, 36, 141-47.

Podell, M., Hayes, K., Oglesbee, M & Mathes, L. (1997). Progressive encephalopathy associated with CD4/CD8 inversion in adult FIV-infected cats [versão electrónica]. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes & Human Retrovirology*, 15, 332-40. Acedido em Jul. 8, 2011, disponível em http://journals.lww.com/jaids/Fulltext/1997/08150/Progressive_Encephalopathy_Associated_with_CD4_CD8.2.aspx

Poli, A., Giannelli, C., Pistello, M., Zaccaro, L., Pieracci, D., Bendinelli, M. & Malvaldi, G. (1992). Detection of salivary antibodies in cats infected with feline immunodeficiency virus. *Journal of Clinical Microbiology*, 30, 2038-2041

Poli, A., Abramo, F., Taccini, E., Guidi, G., Barsotti, P., Bendinelli, M. & Malvaldi, G. (1993). Renal involvement in feline immunodeficiency virus infection: a clinicopathological study. *Nephron*, 64, 282-8.

Poschetto, L.F., Ike, A., Papp, T., Mohn, U., Böhm, R. & Marschang, R.E. (2007). Comparison of the sensitivities of noroviruses and feline calicivirus to chemical disinfection under field-like conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 73, 5494-500.

Poulet, H., Brunet, S., Leroy, V. & Chappuis, G. (2005). Immunisation with a combination of two complementary feline calicivirus strains induces a broad cross-protection against heterologous challenges, *Veterinary Microbiology*, 106, 17-31.

Povey, C. & Ingersoll, J. (1975). Cross-protection among feline caliciviruses. *Infection and Immunity*, 11 (5), 877-885.

Pressler, B.M., Vaden, S.L., Lane, I.F., Cowgill, L.D. & Dye, J.A. (2003). *Candida* spp. urinary tract infections in 13 dogs and seven cats: predisposing factors, treatment, and outcome. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 39, 263-270.

Pu, R., Okada, S., Little, E.R., Xu, B., Stoffs, W.V. & Yamamoto, J.K. (1995). Protection of neonatal kittens against feline immunodeficiency virus infection with passive maternal antiviral antibodies [abstract]. *AIDS Research Human Retroviruses*, 9, 235-242. Acedido em Jul. 8, 2011, disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7755911>

Quigley, J.G., Burns, C.C., Anderson, M.M., Lynch, E.D., Sabo, K.M., Overbaugh, J. & Abkowitz, J.L. (2000). Cloning of the cellular receptor for feline leukemia virus subgroup C (FeLV-C), a retrovirus that induces red cell aplasia. *Blood*, 95 (3), 1093-9.

Quigley, J.G., Yang, Z., Worthington, M.T., Phillips, J.D., Sabo, K.M., Sabath, D.E., Berg, C.L., Sassa, S., Wood, B.L. & Abkowitz, J.L. (2004). Identification of a human heme exporter that is essential for erythropoiesis. *Cell*, 118 (6), 757-66.

Quimby, J.M., Elston, T., Hawley, J., Brewer, M., Miller, A. & Lappin, M. (2008). Evaluation of the association of *Bartonella* species, feline herpesvirus 1, feline calicivirus, feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus with chronic feline gingivostomatitis. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 10, 66-72.

Quinn, P.J., Carter, M.E., Markey, B. & Carter, G.R. (1999). Mycology: the pathogenic yeasts. In *Clinical Veterinary Microbiology* (367-397). London, England. Mosby, Elsevier Limited.

Quinn, P.J., Markey, B.K., Donnelly, W.J. & Leonard, F.C. (2002a). Mycology: yeasts and disease production. In *Veterinary Microbiology and Microbial Disease* (233-239). Oxford, UK: Blackwell Science Ltd.

Quinn, P.J., Markey, B.K., Donnelly, W.J. & Leonard, F.C. (2002b). Viruses and prions: *Caliciviridae*. In *Veterinary Microbiology and Microbial Disease* (408-411). Oxford, UK: Blackwell Science Ltd.

Quinn, P.J., Markey, B.K., Donnelly, W.J. & Leonard, F.C. (2002c). Viruses and prions: *Herpesviridae*. In *Veterinary Microbiology and Microbial Disease* (315-326). Oxford, UK: Blackwell Science Ltd.

Radford, A.D., Sommerville, L., Ryvar, R., Cox, M.B, Johnson, D.R, Dawson, S. & Gaskell, R.M. (2001). Endemic infection of a cat colony with a feline calicivirus closely related to an isolate used in live attenuated vaccines. *Vaccine*, 19, 4358-4362.

Radford, A.D., Coyne, K.P., Dawson, S., Porter, C.J. & Gaskell, R.M. (2007). Feline calicivirus. *Veterinary Research*, 38, 319-335.

Radford, A.D., Addie, D., Belák, S., Boucraut-Baralon, C., Egberink, H., Frymus, T., Gruffydd-Jones, T., Hartmann, K., Hosie, M.J., Lloret, A., Lutz, H., Marsilio, F., Pennisi, M.G., Thiry, E., Truyen, U. & Horzinek, M. (2009). Feline calicivirus infection: ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11, 556-564.

Ramani, R., Gromadzki, S., Pincus, D.H., Salkin, I.F. & Chaturvedi, V. (1998). Efficacy of API 20C and ID 32C systems for identification of common and rare clinical yeast isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 36 (11), 3396-3398.

Ramos-e-Silva, M., Lima, C.M.O., Schechtman, R.C., Trope, B.M. & Carneiro, S. (2010). Superficial mycosis in immunodepressed patients (aids). *Clinics in Dermatology*, 28, 217-225

Rees, T.M. & Lubinski, J.L. (2008). Oral supplementation with L-lysine did not prevent upper respiratory infection in a shelter population of cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 10, 510-13.

Rees, C.A. (2011). Viral dermatitis. In G. D. Norsworthy, M. A. Crystal, S. F. Grace, L. P. Tilley (Eds.) *The Feline Patient* (4th ed.) (550-551). Iowa, USA: Blackwell Science Ltd..

Reinacher, M. (1978). Feline leukemia virus-associated enteritis – a condition with features of feline panleukopenia [abstract]. *Veterinary Pathology*, 24, 1-4.

Reinacher, M. (1989). Diseases associated with spontaneous feline leukaemia virus (FeLV) infection in cats [abstract]. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 21, 85-95.

Reinstein, S. & Davidson, H.J. (2011). Keratitis and conjunctivitis. In G. D. Norsworthy, M. A. Crystal, S. F. Grace, L. P. Tilley (Eds.) *The Feline Patient* (4th ed.) (294-296). Iowa, USA: Blackwell Science Ltd..

Reubel, G.H., Ramos, R.A., Hickman, M.A., Rimstad, E., Hoffmann, D.E. & Pedersen, N.C. (1993). Detection of active and latent feline herpesvirus 1 infections using the polymerase chain reaction. *Archives of Virology*, 132, 409-420.

Richards, J.R. (2005). Feline immunodeficiency virus vaccine: implications for diagnostic testing and disease management [abstract]. *Biologicals*, 33, 215-7. Acedido em Jul. 11, 2011, disponível em http://www.sciencedirect.com/science?_ob=MIimg&_imagekey=B6WBS-4HF5KGK-3-1&_cdi=6718&_user=2459750&_pii=S1045105605000862&_origin=&_coverDate=12%2F31%2F2005&_sk=999669995&_view=c&_wchp=dGLzVlb-zSkWW&md5=08826b2aea4180ccae414cca45a542d0&ie=/sdarticle.pdf

Richards, J.R., Elston, T.H., Ford, R.B., Gaskell, R.M., Hartmann, K., Hurley, K.F., Lappin, M.R., Levy, J.K., Rodan, I., Scherk, M., Schultz, R.D. & Sparkes, A.H. (2006) The 2006 American Association of Feline Practitioners: Feline Vaccine Advisory Panel Report. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 229, 1405-1441. Acedido em Jul. 11, 2011, disponível em <http://avmajournals.avma.org/doi/pdf/10.2460/javma.229.9.1405>

Rimmelzwaan, G.F., Siebelink, K.H., Broos, H., Drost, G.A., Weijer, K., van Herwijnen, R., Osterhaus, A.D.M.E. (1994). Gag and env-specific serum antibodies in cats after natural and experimental infection with feline immunodeficiency virus [abstract]. *Veterinary Microbiology*, 39,153-165.

Robertson, S.A., Taylor, P.M. & Sear, J.W. (2003). Systemic uptake of buprenorphine by cats after oral mucosal administration. *Veterinary Record*, 152, 675-8.

Robson, M. & Crystal, M.A. (2011). Gingivitis-stomatitis-pharyngitis. In G. D. Norsworthy, M. A. Crystal, S. F. Grace, L. P. Tilley (Eds.) *The Feline Patient* (4th ed.) (199-201). Iowa, EUA: Blackwell Science Ltd..

Roca, A.L. (2008). Calicivirus felino: inmunidad y vacunación. In *Actualización clínica de la infección por calicivirus en gatos*. (145-163). Merial Laboratorios, S. A..

Rodero, L., Davel, G., Soria, M., Vivot, W., Cordoba, S., Canteros, C.E. & Saporiti, A. (2005). Multicenter study of fungemia due to yeasts in Argentina [abstract]. *Revista Argentina de Microbiología*, 37, 189-195.

Rojko, J.L., Hoover, E.A., Quackenbush, S.L. & Olsen, R.G. (1982). Reactivation of latent feline leukaemia virus infection [abstract]. *Nature*, 298, 385-88.

Román, F.S., Cancio, S., Pican, R. & Guardoqui, M. (1998) Enfermedades inflamatorias de la cavidad oral en pequeños animales. In F.S. Román (Ed.) *Atlas de Odontología en Pequeños Animales* (127-142). Madrid, Spain: Editores Médicos S. A.

Rosado, R.C. (2009). *Rastreio virológico de carnívoros errantes e caracterização genética viral*. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Técnica de Lisboa.

Sandmeyer, L.S., Keller, C.B. & Bienzle, D. (2005a). Effects of cidofovir on cell death and replication of feline herpesvirus-1 in cultured feline corneal epithelial cells [abstract]. *American Journal of Veterinary Research*, 66 (2), 217-222.

Sandmeyer, L.S., Keller, C.B. & Bienzle, D. (2005b). Effects of interferon-alpha on cytopathic changes and titers for feline herpesvirus-1 in primary cultures of feline corneal epithelial cells [abstract]. *American Journal of Veterinary Research*, 66, 210– 216.

Sardi, J.C.O., Duque, C., Mariano, F.S., Peixoto, I.T.A., Höfling, J.F. & Gonçalves, R.B. (2010). *Candida* spp. in periodontal disease: a brief review. *Journal of Oral Science*, 52, 177-185.

Schorr-Evans, E.M., Poland, A., Johnson, W.E. & Pedersen, N.C. (2003). An epizootic of highly virulent feline calicivirus disease in a hospital setting in New England. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 5, 217-226.

Scott, F.W. (1980). Virucidal disinfectants and feline viruses [abstract]. *American Journal of Veterinary Research*, 41, 410-414.

Sellon, R.K., Jordan, H.L., Kennedy-Stoskopf, S., Tompkins, M.B. & Tompkins, W.A. (1994). Feline immunodeficiency virus can be experimentally transmitted via milk during acute maternal infection. *Journal of Virology*, 68, 3380-3385.

Sellon, R.K., Hartmann, K (2006). Feline Immunodeficiency Virus Infection. In Greene, C.E. (ed.) *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. (3th ed.) (131-142). St. Louis, Missouri, USA: Saunders Elsevier

Sergeant, E.S.G. (2009). Epitools epidemiological calculators. AusVet Animal Health Services and Australian Biosecurity Cooperative Research Centre for Emerging Infectious Disease. Acedido em Set. 18, 2011, disponível em <http://epitools.ausvet.com.au>.

Shelton, G.H. & Linenberger, M.L. (1995). Hematologic abnormalities associated with retroviral infections in the cat [abstract]. *Seminars in Veterinary Medicine & Surgery (Small Animal)*, 10, 220-33. Acedido em Jul. 13, 2011, disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8820596>

Shimajima, M., Miyazawa, T., Ikeda, Y., McMonagle, E.L., Haining, H., Akashi, H., Takeuchi, Y., Hosie, M.J., Willett, B.J. (2004). Use of CD134 as a primary receptor by the feline immunodeficiency virus. *Science*, 303, 1192-1195.

Sierra, P., Guillot, J., Jacob, H., Bussi  ras, S. & Chermette, R. (2000). Fungal flora on cutaneous and mucosal surfaces of cats infected with feline immunodeficiency virus or feline leukemia virus. *American Journal of Veterinary Research*, 61, 158-161.

Sila, G.H. & Davidson, H.J. (2011). Corneal Ulcer. In G. D. Norsworthy, M. A. Crystal, S. F. Grace, L. P. Tilley (Eds.) *The Feline Patient* (4th ed.) (93-95). Iowa, USA: Blackwell Science Ltd..

Silva, S., Negri, M., Henriques, M., Oliveira, R., Williams, D.W. & Azeredo, J. (2011). *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance [abstract] [versão electrónica]. Federation of

- European Microbiological Societies: Microbiology Reviews, 1-18. Acedido em Jul. 27, 2011, disponível em <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1574-6976.2011.00278.x/abstract>
- Sodora, D.L., Shpaer, E.G., Kitchell, B.E., Dow, S.W., Hoover, E.A. & Mullins, J.I. (1994). Identification of three feline immunodeficiency virus (fiv) env gene subtypes and comparison of the fiv and human immunodeficiency virus type 1 evolutionary patterns. *Journal of Virology*, 68, 2230-2238.
- Stiles, J., McDermott, M., Willis, M., Roberts, W. & Greene, C. (1997a). Comparison of nested polymerase chain reaction, virus isolation, and fluorescent antibody testing for identifying feline herpesvirus in cats with conjunctivitis [abstract]. *American Journal of Veterinary Research*, 58, 804-807.
- Stiles, J., McDermott, M., Bigsby, D., Willis, M., Martin, C., Roberts, W. & Greene, C. (1997b). Use of nested polymerase chain reaction to identify feline herpesvirus in ocular tissue from clinically normal cats and cats with corneal sequestra or conjunctivitis [abstract]. *American Journal of Veterinary Research*, 58, 338-342.
- Stiles, J., Townsend, W.M., Rogers, Q.R. & Krohne, S.G. (2002). Effect of oral administration of L-lysine on conjunctivitis caused by feline herpesvirus in cats, *American Journal of Veterinary Research*, 63, 99-103.
- Stiles, J. (2003). Feline herpesvirus. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 18, 178-185.
- Suh, S.O., Nguyen, N.H. & Blackwell, M. (2007). Yeasts isolated from plant-associated beetles and other insects: seven novel *Candida* species near *Candida albicans*. *Federation of European Microbiological Societies: Yeast Research*, 8, 88-102.
- Sukura, A., Salminen, T. & Lindberg, L.A. (1992). A survey of FIV antibodies and FeLV antigens in free-roaming cats in the capital area of Finland [abstract]. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 33 (1), 9-14.
- Sykes, J.E., Browning, G.F., Anderson, G., Studdert, V.P. & Smith, H.V. (1997). Diferential sensitivity of culture and the polymerase chain reaction for detection of feline herpesvirus 1 in vaccinated and unvaccinated cats. *Archives of Virology*, 142, 65-74.
- Sykes, J.E., Allen, J.L., Studdert, V.P. & Browning, G.F. (2001). Detection of feline calicivirus, feline herpesvirus 1 and *Chlamydia psittaci* mucosal swabs by multiplex RT-PCR/PCR. *Veterinary microbiology*, 81, 95-108.
- Sykes, J.E. (2010). Immunodeficiencies caused by Infectious diseases. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 40, 409-423.
- Symmers, W.S.C. (1968). Aspects of the contributions of histopathology to the study of deep-seated fungal infections. In R.D. Baker (Ed.) *Systemic Mycoses* (26-53). London, UK: J.&A. Churchill Ltd.
- Tailor, C.S., Willett, B.J. & Kabat, D. (1999). A putative cell surface receptor for anemia-inducing feline leukemia virus subgroup C is a member of a transporter superfamily. *Journal of Virology*, 73 (8), 6500-5.

- Tamura, N.K., Negri, M.F.N., Bonassoli, L.A. & Svidzinski, T.I.E. (2007). Fatores de virulência de *Candida* spp. isoladas de cateteres venosos e mãos de servidores hospitalares. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 40 (1), 91-93.
- Tandon, R., Cattori, V., Gomes-Keller, M.A., Meli, M.L., Golder, M.C., Lutz, H., Hofmann-Lehmann, R. (2005). Quantitation of feline leukaemia virus viral and proviral loads by TaqMan real-time polymerase chain reaction. *Journal of Virology Methods*, 130, 124-32.
- Tankersley, R.W. (1964). Amino acid requirements of herpes simplex virus in human cells. *Journal of bacteriology*, 87, 609-613.
- Tenorio, A.P., Franti, C.E., Madewell, B.R. & Pedersen, N.C. (1991). Chronic oral infections of cats and their relationship to persistent oral carriage of feline calici-, immunodeficiency or leukemia viruses. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 29, 1-14
- Thiry, E., Addie, D., Belák, S., Boucraut-Baralon, C., Egberink, H., Frymus, T., Gruffydd-Jones, T., Hartmann, K., Hosie, M.J., Lloret, A., Lutz, H., Marsilio, F., Pennisi, M.G., Radford, A.D. (2009). Feline herpesvirus infection: ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11, 547-555.
- Torres, A.N., Mathiason, C.K. & Hoover, E.A. (2005). Re-examination of feline leukemia virus: host relationships using real-time PCR. *Virology*, 332, 272-283.
- Torten, M., Franchini, M., Barlough, J.E., George, J.W., Mozes, E., Lutz, H. & Pedersen, N.C. (1991). Progressive immune dysfunction in cats experimentally infected with feline immunodeficiency virus. *Journal of Virology*, 65, 2225-30.
- Trofa, D., Gácsér, A. & Nosanchuk, J.D. (2008). *Candida parapsilosis*, an emerging fungal pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*, 606-625
- van Cutsem, J. & Rochette, F. (1993). Descripciones micológicas. In *Micosis en los Animales Domésticos* (165-205). Beerse, Belgium: Janssen Research Foundation.
- Van der Meulen, K., Garre, B., Croubels, S. & Nauwynck, H. (2006). In vitro comparison of antiviral drugs against feline herpesvirus 1, *BMC Veterinary Research*, 2, 13.
- van der Walt, J.P. & Yarrow, D. (1984). Methods for isolation, maintenance, classification and identification of yeasts. In N. J. W. Kreger-van Rij (Ed.). *The Yeasts: a Taxonomic Study* (3rd ed.) (45-103). Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Science Publishers.
- Vobis, M., D'haese, J., Mehlhorn, H. & Mencke, N. (2003). The feline leukemia virus (FeLV) and the cat flea (*Ctenocephalides felis*). *Parasitology Research*, 90, S132-S134.
- Vogtlin, A., Fraefel, C., Albini, S., Leutenegger, C.M., Schraner, E., Spiess, B., Lutz, H. & Ackermann, M. (2002). Quantification of feline herpesvirus 1 DNA in ocular fluid samples of clinically diseased cats by real-time TaqMan PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 40, 519-523.
- Volopich, S., Benetka, V., Schwendenwein, I., Mostl, K., Sommerfeld-Stur, I. & Nell, B. (2005). Cytologic findings, and feline herpesvirus DNA and *Chlamydophila felis* antigen

- detection rates in normal cats and cats with conjunctival and corneal lesions [abstract]. *Veterinary Ophthalmology*, 8, 25-32.
- Waters, L., Hopper, C.D., Gruffydd-Jones, T.J. & Harbour, D.A. (1993). Chronic gingivitis in a colony of cats infected with feline immunodeficiency virus and feline calicivirus [abstract]. *Veterinary Record*, 132 (14), 340-342.
- Weaver, E.A., Collisson, E.W., Slater, M. & Zhu, G.. (2004) Phylogenetic analyses of Texas isolates indicate an evolving subtype of the clade B feline immunodeficiency viruses. *Journal of Virology*, 78, 2158-2163.
- Weaver, C.C., Burgess, S.C., Nelson, P.D., Wilkinson, M., Ryan, P.L., Nail, C.A., Kelly-Quagliana, K.A., May, M.L., Reeves, R.K., Boyle, C.R. & Coats, K.S. (2005). Placental immunopathology and pregnancy failure in the FIV-infected cat [abstract]. *Placenta*, 26, 138-47. Acedido em Jul. 8, 2011, disponível em [http://www.placentajournal.org/article/S0143-4004\(04\)00132-8/abstract](http://www.placentajournal.org/article/S0143-4004(04)00132-8/abstract)
- Weems Jr., J.J. (1992). *Candida parapsilosis*: Epidemiology, pathogenicity, clinical manifestations, and antimicrobial susceptibility [abstract]. *Clinical Infectious Diseases*, 14, 756-766.
- Weigler, B.J., Guy, J.S., Naisse, M.P., Hancock, S.I. & Sherry, B. (1997a). Effect of a live attenuated intranasal vaccine on latency and shedding of feline herpesvirus 1 in domestic cats. *Archives of Virology*, 142, 2389-2400.
- Weigler, B.J., Babineau, C.A., Sherry, B. & Nasisse, M.P. (1997b). High sensitivity polymerase chain reaction assay for active and latent feline herpesvirus-1 infections in domestic cats [abstract]. *Veterinary Record*, 140, 335-338.
- Weiss, R.C. (1989). Synergistic antiviral activities of acyclovir and recombinant human leukocyte (alpha) interferon on feline herpesvirus replication [abstract]. *American Journal of veterinary Research*, 50, 1672-1677.
- Wenzel, R.P. (1995). Nosocomial candidemia: risk factors and attributable mortality [abstract]. *Clinical Infectious Diseases*, 20, 1531-1534.
- Westermeyer, H.D., Thomasy, S.M., Kado-Fong, H. & Maggs, D.J. (2009). Assessment of viremia associated with experimental primary feline herpesvirus infection or presumed herpetic recrudescence in cats. *American Journal of Veterinary Research*, 70, 99-104.
- White, S.D., Rosychuk, R.A.W., Janik, T.A., Denerolle, P. & Schultheiss, P. (1992). Plasma cell stomatitis-pharyngitis in cats: 40 cases (1973-1991) [abstract]. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 200, 1377-1380.
- Wilhelm, S. & Truyen, U. (2006). Real-time reverse transcription polymerase chain reaction assay to detect a broad range of feline calicivirus isolates. *Journal of Virological Methods*, 133, 105-108.
- Willett, B.J., Picard, L., Hosie, M.J., Turner, J.D., Adema, K. & Clapham, P.R. (1997) Shared usage of the chemokine_receptor CXCR4 by the feline and human immunodeficiency viruses. *Journal of Virology*, 71, 6407-6415.

Willett, B.J., McMonagle, E.L., Ridha, S. & Hosie, M.J. (2006). Differential utilization of CD134 as a functional receptor by diverse strains of feline immunodeficiency virus. *Journal of Virology*, 80, 3386-3394.

Willett, B.J. & Hosie, M.J. (2008). Chemokine receptors and co-stimulatory molecules: unraveling feline immunodeficiency virus infection. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 123 (1-2), 56-64.

Willey, J., Sherwood, L. & Woolverton, C. (2008). Human diseases caused by fungi and protists: opportunistic diseases. In *Prescott, Harley, and Klein's Microbiology* (7th ed.) (1016-1022). New York, USA: McGraw-Hill

Williams, D.L., Robinson, J.C., Lay, E. & Field, H. (2005). Efficacy of topical aciclovir for the treatment of feline herpetic keratitis: results of a prospective clinical trial and data from in vitro investigations [abstract]. *Veterinary Record*, 157, 254-257.

Williams, D. & Lewis, M. (2011). Pathogenesis and treatment of oral candidosis. *Journal of Oral Microbiology*, 3, 5771.

Willoughby, K., Bennett, M., McCracken, C.M. & Gaskell, R.M. (1999). Molecular phylogenetic analysis of felid herpesvirus 1, *Veterinary microbiology*, 69, 93-97.

Wise, D.J., Carter G.R. & Flores, E.F. (2005). *Retroviridae*. In Carter G.R., Wise D.J. & Flores E.F. (Eds.). *A Concise Review of Veterinary Virology*. International Veterinary Information Service, Ithaca, NY, USA. Acedido em Jul. 17, 2011, disponível em <http://www.ivis.org/advances/Carter/toc.asp>

Woo, J.C., Dean, G.A., Lavoy, A., Clark, R. & Moore, P.F.. (1999). Investigation of recombinant human insulin-like growth factor type I in thymus regeneration in the acute stage of experimental FIV infection in juvenile cats [abstract]. *AIDS Research Human Retroviruses*, 15, 1377-88. Acedido em Jul. 4, 2011, disponível em <http://www.liebertonline.com/doi/abs/10.1089/088922299310089>

Yamamoto, J.K., Sparger, E., Ho, E.W., Andersen, P.R., O'Connor, P., Mandell, C.P., Lowenstine, L., Munn, R. & Pedersen, N.C. (1988). The pathogenesis of experimentally induced feline immunodeficiency virus (FIV) infection in cats [abstract]. *American Journal of Veterinary Research*, 49, 1246-1258. Acedido em Jul. 4, 2011, disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2459996>

Yamamoto, J.K., Hansen, H., Ho, E.W., Morishita, T.Y., Okuda, T., Sawa, T.R., Nakamura, R.M., Kau, W.P. & Pedersen, N.C. (1989). Epidemiologic and clinical aspects of feline immunodeficiency virus infection in cats from the continental United States and Canada and possible mode of transmission. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 194, 213-220.

Yamamoto, J.K., Pu, R. Sato, E. & Hohdatsu, T. (2007). Feline immunodeficiency virus pathogenesis and development of a dual-subtype feline-immunodeficiency-virus vaccine. *AIDS*, 21, 547-563.

Yang, Y.L.. (2003). Virulence factors of *Candida* species. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 36 223-228.

Zeidner, N.S., Myles, M.H., Mathiason-DuBard, C.K., Dreitz, M.J., Mullins, J.I. & Hoover, E.A. (1990). Alpha interferon (2b) in combination with zidovudine for the treatment of presymptomatic feline leukemia virus-induced immunodeficiency syndrome. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 34, 1749-56.

Zicola, A., Saegerman, C., Quatpers, D., Viandier, J. & Thiry, E. (2009). Feline herpesvirus 1 and feline calicivirus infections in a heterogeneous cat population of a rescue shelter. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11, 1023-1027.

ANEXOS

Anexo 1

Resumo submetido ao V Congresso da Sociedade Portuguesa de Ciências Veterinárias (13 a 15 de Outubro de 2011, IRNB – EZN, Vale de Santarém, Portugal).

Infeção viral e informação clínica em gatos errantes, Moita, Setúbal, Portugal

Rodrigues, C.B.¹, Martins, T.¹, Duarte, A.², Alves, A.C.³, Braz, B.S.², Tavares, L.²

¹ Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, Portugal

² Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, Portugal

³ Hospital veterinário SOS Vet, Cova da Piedade, Almada, Portugal

Este trabalho teve por objectivo determinar a frequência dos principais vírus felinos e o seu papel no aparecimento de sintomatologia clínica concomitante. O grupo de estudo incluiu cinquenta gatos de uma associação particular situada na freguesia de Alhos Vedros (Setúbal, Portugal). Após exame clínico e hemograma, os materiais biológicos recolhidos incluíram sangue total para detecção de anticorpos contra o Vírus da Imunodeficiência Felina (FIV) e de antígeno do Vírus da Leucémia Felina (FeLV) (Speed Duo FeLV/FIV, Virbac, Portugal), zaragatoa oral para detecção de ácido nucleico do Herpesvírus Felino (FHV) e do Calicivírus Felino (FCV) e uma zaragatoa rectal para detecção de ácido nucleico do Parvovírus Felino (FPV) e do Coronavírus Felino (FCoV).

Em relação ao FIV e FeLV, 22% (11/50) eram positivos para FIV, 10% (5/50) para FeLV. Relativamente ao FHV e ao FCV detectou-se 62% (31/50) e 26% (13/50) de positividade, respectivamente. Nenhum animal excretava FPV, mas 30% (15/50) da amostra foi positiva ao FCoV.

Dos sinais clínicos relacionados com FIV, a estomatite foi o mais frequente, em 7/11 animais, seguida de gengivite moderada a grave e linfadenopatia (3/11). Nenhum dos animais apresentava anemia nem leucopénia, mas um animal revelou leucocitose moderada. Dos cinco animais infectados com FeLV, apenas dois exibiam linfonodos aumentados. Confirmou-se a presença de úlceras linguais e gengivite moderada a grave em 6/13 dos gatos infectados com FCV e estomatite em 9 animais. Conjuntivite (n=1), Corrimento ocular (n=3) e corrimento nasal (n=1) foram sinais clínicos raramente observados nos animais com FCV. Ao exame clínico, dos 31 animais positivos a FHV, 9 apresentavam corrimento ocular, 2 conjuntivite e 6 tinham corrimento nasal. As úlceras linguais foram observadas em 4 animais, 10 tinham estomatite e 8 apresentavam gengivite moderada a grave. Em relação ao FCoV, apenas um animal estava desidratado e nenhum apresentava dispneia, alterações oculares, cutâneas nem neurológicas.

A estomatite foi o sinal clínico mais observado, tanto nos animais infectados com os agentes em questão como nos não infectados. Verificou-se ainda que a presença de FIV ou FeLV, como agentes infecciosos agressivos e indutores de imunodeficiência grave, aumentou a manifestação de estomatite.

Em relação aos dados de frequência viral, devido ao tamanho da amostra, será necessária uma análise mais extensa para formular uma correcta avaliação da prevalência destes agentes infecciosos em populações errantes felinas.

Anexo 2

Resumo submetido ao V Congresso da Sociedade Portuguesa de Ciências Veterinárias (13 a 15 de Outubro de 2011, IRNB – EZN, Vale de Santarém, Portugal).

Detecção de leveduras na cavidade oral de gatos errantes, Setúbal, Portugal

Rodrigues C.¹, Martins T.¹, Martins M.², Duarte A.³, Braz, B.S.³, Alves, A.C.⁴, Tavares L.³

¹ Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, Portugal

² Laboratório Nacional de Investigação Veterinária, Portugal

³ Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, Portugal

⁴ Hospital Veterinário SOS Vet, Cova da Piedade, Almada, Portugal

Este trabalho teve por objectivo analisar a microbiota micológica da boca dos felídeos domésticos e avaliar a sua relação com a sintomatologia clínica manifestada ao nível da cavidade oral e a infecção com o Vírus da Imunodeficiência Felina (FIV) e com o Vírus da Leucémia Felina (FeLV), ambos capazes de induzir imunodeficiência. O grupo de estudo incluiu cinquenta gatos de uma associação particular situada na freguesia de Alhos Vedros (Setúbal, Portugal). Após exame clínico, os materiais biológicos recolhidos incluíam sangue total para detecção de anticorpos contra o FIV e de antigénio de FeLV (Speed Duo FeLV/FIV, Virbac, Portugal) e uma zaragatoa oral para cultura micológica em meio *Sabouraud* dextrose agar. As colónias obtidas neste meio foram observadas ao microscópio óptico, após coloração com azul de algodão, para diferenciação entre bactérias e leveduras, tendo as placas com leveduras sido repicadas para uma nova placa em meio de *corn meal* agar, para realização de provas de filamentação. As culturas de leveduras foram identificadas quanto ao género e espécie, utilizando o API ID 32C® (bioMérieux).

Em cinco animais foi detectada a presença de *Candida* spp. na cavidade oral, dos quais dois estavam infectados com FIV e um com FeLV. As espécies identificadas foram *C. silvicola* (n=3), *C. valida* (n=1) e *C. parapsilosis* (n=1).

Clinicamente, os animais nos quais foram detectadas leveduras, apresentavam gengivite ligeira (n=5), estomatite (n=2) e úlceras linguais (n=1). O animal que apresentava os três sinais clínicos estava infectado com FIV, e o animal positivo a FeLV exibia gengivite ligeira e estomatite.

Dada a reduzida dimensão da amostra em estudo, não foi possível obter uma correlação significativa entre a infecção por retrovírus e a presença ou ausência de sinais clínicos, no entanto 60% (3/5) dos animais nos quais foram detectadas leveduras, encontravam-se infectados com FIV ou FeLV. Considerando que a informação sobre a microbiota micológica da cavidade oral dos felinos é escassa, a detecção de leveduras, em particular do género *Candida*, contribui por um lado para um melhor conhecimento nesta área, mas também para a compreensão do papel potencial do FIV e FeLV enquanto vírus imunossupressores capazes de interferir na modulação da microbiota comensal destes animais.



Detecção de leveduras na cavidade oral de gatos errantes Moita, Setúbal, Portugal

Rodrigues C.¹, Martins T.¹, Martins M.², Duarte A.³, Braz, B.S.³, Alves, A.C.⁴, Tavares L.³

¹Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, FMV-UTL

²Laboratório Nacional de Investigação Veterinária, Portugal

³Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, Portugal

⁴Hospital Veterinário SOSVet, Cova da Piedade, Almada, Portugal

OBJECTIVOS

Analisar a microbiota micológica presente na boca dos felídeos domésticos e avaliar a sua relação com a sintomatologia clínica manifestada ao nível da cavidade oral, e a infecção com o Vírus da Imunodeficiência Felina (FIV) e com o Vírus da Leucemia Felina (FeLV), ambos capazes de induzir imunodeficiência.

MATERIAL E MÉTODOS

População em estudo: 50 gatos de uma associação particular situada na freguesia de Alhos Vedros, Setúbal, Portugal.

Após exame clínico, foram colhidos 2mL de sangue total periférico para detecção de anticorpos contra o FIV e de antígeno de FeLV (Speed Duo FeLV/FIV, Virbac, Portugal), e uma zaragatoa oral para cultura micológica em meio *Sabouraud* dextrose agar.

Após 48 horas de incubação, as colónias obtidas foram coradas com azul de algodão e observadas ao microscópio óptico para permitir a diferenciação entre bactérias e leveduras.

As colónias puras de leveduras foram identificadas quanto ao género e espécie, utilizando o API ID 32C® (bioMérieux), e repicadas para uma nova placa em meio de *corn meal* agar, para realização de provas de filamentação.

RESULTADOS

Foi detectada a presença de *Candida* spp. na cavidade oral de cinco animais, dos quais dois estavam infectados com FIV e um com FeLV.

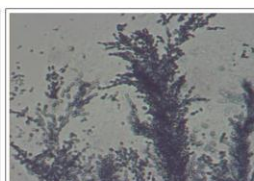
As espécies identificadas foram *C. silvicola* (n=3), *C. valida* (n=1) e *C. parapsilosis* (n=1).

Clinicamente, os animais nos quais foram detectadas leveduras, apresentavam gengivite ligeira (n=5), estomatite (n=2) e úlceras linguais (n=1).

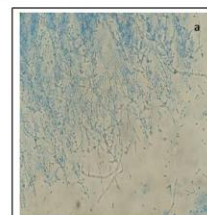
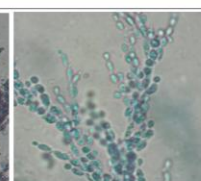
O animal que apresentava os três sinais clínicos estava infectado com FIV, e o animal positivo a FeLV exibía gengivite ligeira e estomatite.



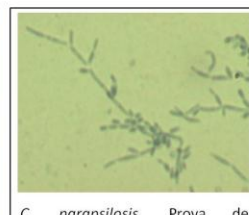
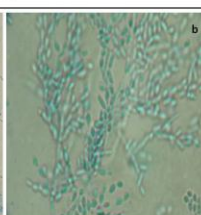
Coloração azul de algodão.
C. valida (100x).



C. valida. Prova de filamentação com coloração azul de algodão (a - ampliação 100x; b - ampliação de 200x).



C. silvicola. Prova de filamentação com coloração azul de algodão (a - ampliação 100x; b - ampliação 200x).



C. parapsilosis. Prova de filamentação com coloração azul de algodão (ampliação 200x).

DISCUSSÃO/CONCLUSÃO

Devido à reduzida dimensão da amostra em estudo, não foi possível obter uma correlação significativa entre a infecção por retrovírus e a presença ou ausência de sinais clínicos, embora 4/5 animais nos quais foram detectadas leveduras, encontrava-se infectado com FIV ou com FeLV.

Considerando que a informação sobre a microbiota micológica da cavidade oral dos felinos é escassa, a detecção de leveduras, em particular do género *Candida*, contribui um melhor conhecimento nesta área, mas também para a compreensão do papel potencial do FIV e FeLV enquanto vírus imunossupressores capazes de interferir na modulação da microbiota comensal destes animais.

AGRADECIMENTOS

Professor Doutor Fernando Bernardo (FMV-UTL)

Doutora Anabela Lança (FMV-UTL)

CIISA, FMV/UTL

LNIV

VIRBAC, Portugal

AAAA Moita

SOSVet

Anexo 3

Resumo submetido ao V Congresso da Sociedade Portuguesa de Ciências Veterinárias (13 a 15 de Outubro de 2011, IRNB – EZN, Vale de Santarém, Portugal).

***Ehrlichia* spp., *Anaplasma* spp., *Rickettsia* spp., *Leishmania* spp. e *Mycoplasma haemofelis* em gatos errantes, Moita, Setúbal, Portugal.**

Martins, T.¹, Rodrigues, C.B.¹, Duarte, A.², Alves, A.C.³, Braz, B.S.², Tavares, L.²

¹ Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, Portugal

² Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, Portugal

³ Hospital veterinário SOS Vet, Cova da Piedade, Almada, Portugal

Os ectoparasitas são vectores importantes na transmissão de variadas doenças que afectam o estado hígido dos felídeos. Além da imunossupressão de que são causadores, estes agentes são também responsáveis pela transmissão de determinados hemoparasitas como a *Ehrlichia* spp., *Anaplasma* spp., *Rickettsia* spp., *Leishmania infantum* e *Mycoplasma haemofelis*.

Para determinar a frequência dos principais hemoparasitas, cinquenta felídeos de uma associação de abrigo animal particular da freguesia de Alhos Vedros, Portugal, foram avaliados para determinar a frequências destes agentes. Após exame clínico foi colhido sangue total para diagnóstico molecular de *Ehrlichia* spp., *Anaplasma* spp. e *Rickettsia* spp. por PCR convencional. A detecção de ácido nucleico de *Leishmania* e *Mycoplasma haemofelis* foi efectuada por *real time quantitative* PCR.

As frequências encontradas foram de 16% (8/50) para *Rickettsia* spp, 4% (2/50) para *Mycoplasma haemofelis*, 2% (1/50) para *Leishmania infantum* e 2% (1/50) de co-infecção com *Ehrlichia* spp. e *Anaplasma* spp..

O gato infectado com *Leishmania infantum* apenas revelou uma ligeira linfocitose, não apresentando qualquer tipo de lesões cutâneas e oculares, aumento de linfonodos nem outros sinais clínicos actualmente associados à doença, o que seria de esperar, devido ao papel destes animais enquanto reservatórios da *Leishmania* spp.

Corrimento ocular foi o único sinal clínico detectado pelo animal infectado com *Ehrlichia* spp. e/ou *Anaplasma* spp. Os restantes sinais descritos na literatura tais como febre, perda de peso, vómitos e letargia não foram facilmente observáveis devido às características da população avaliada. A *Rickettsia* spp. é um agente pouco pesquisado em felinos e que normalmente não está associado à presença de sinais clínicos. As principais alterações encontradas nos animais positivos foram linfadenomegália (4/8), corrimento ocular (3/8) e conjuntivite (2/8), no entanto estes sinais podem não estar directamente associados ao agente em questão.

Devido às características da população em estudo, e às condições de alojamento, o controlo dos vectores responsáveis pela transmissão das parasitoses acima descritas foi considerado insatisfatório, no entanto a sua prevalência não se revelou tão alta como esperado. Considerando a localização geográfica deste abrigo, numa zona com características climáticas únicas e o baixo número de animais testados, seria de todo o interesse alargar este estudo de forma a estimar a prevalência real destes agentes e avaliar o impacto destes animais enquanto reservatórios/transmissores de alguns destes agentes parasitários.

ANEXO 4

Tabela 6. Frequências absolutas (FA) e relativas (FR) das consultas observadas em cada especialidade, distribuídas por espécie animal.

Especialidade	FA	FR (%)	Canino		Felino		Exótico	
			FA	FR (%)	FA	FR (%)	FA	FR (%)
Medicina Preventiva	139	41,8	82	40,2	53	45,3	4	33,3
Cardiologia	17	5,1	12	5,9	4	3,4	1	8,3
Dermatologia	26	7,8	15	7,4	11	9,4	0	0,0
Doenças infecto-contagiosas	8	2,4	5	2,4	3	2,6	0	0,0
Endocrinologia	4	1,2	3	1,5	1	0,8	0	0,0
Gastroenterologia	31	9,3	19	9,3	9	7,7	3	25,0
Neurologia	6	1,8	5	2,4	1	0,8	0	0,0
Oftalmologia	8	2,4	7	3,4	1	0,8	0	0,0
Oncologia	17	5,1	12	5,9	5	4,3	0	0,0
Músculo-esquelético / Ortopedia	11	3,3	8	3,9	3	2,6	0	0,0
Urologia	8	2,4	3	1,5	5	4,3	0	0,0
Respiratório	4	1,2	1	0,5	3	2,6	0	0,0
Reprodução e Obstetrícia	17	5,1	11	5,4	5	4,3	1	8,3
Eutanásia	17	5,1	11	5,4	5	6,8	1	16,8
Outros	20	6,0	10	4,9	8	4,3	2	8,3
Total	333	100	204	100	117	100	12	100

Gráfico 5. Frequência relativa de consultas assistidas em cada especialidade.

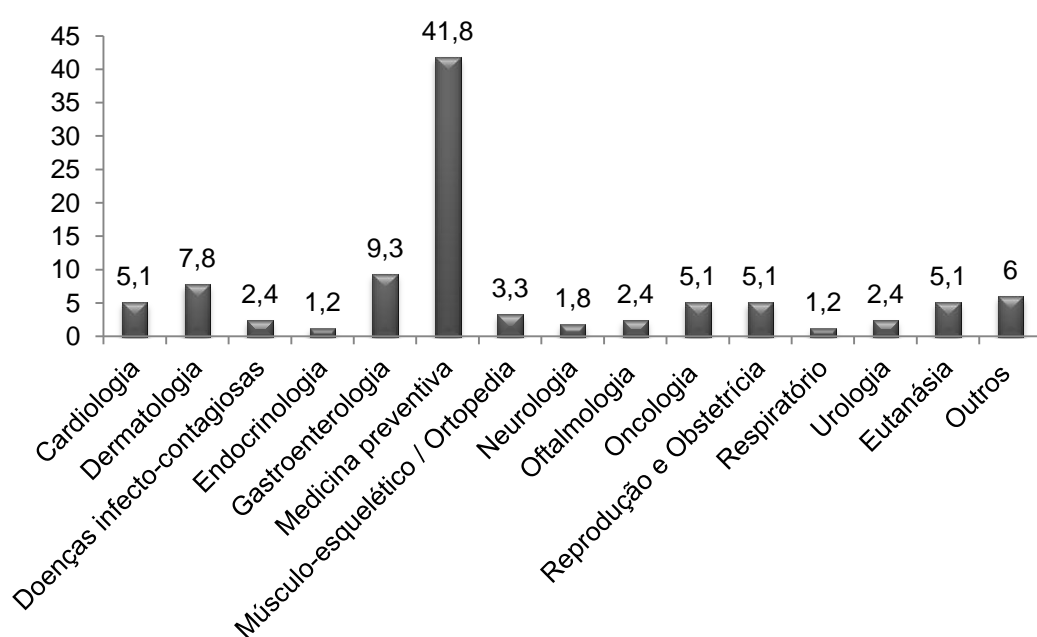
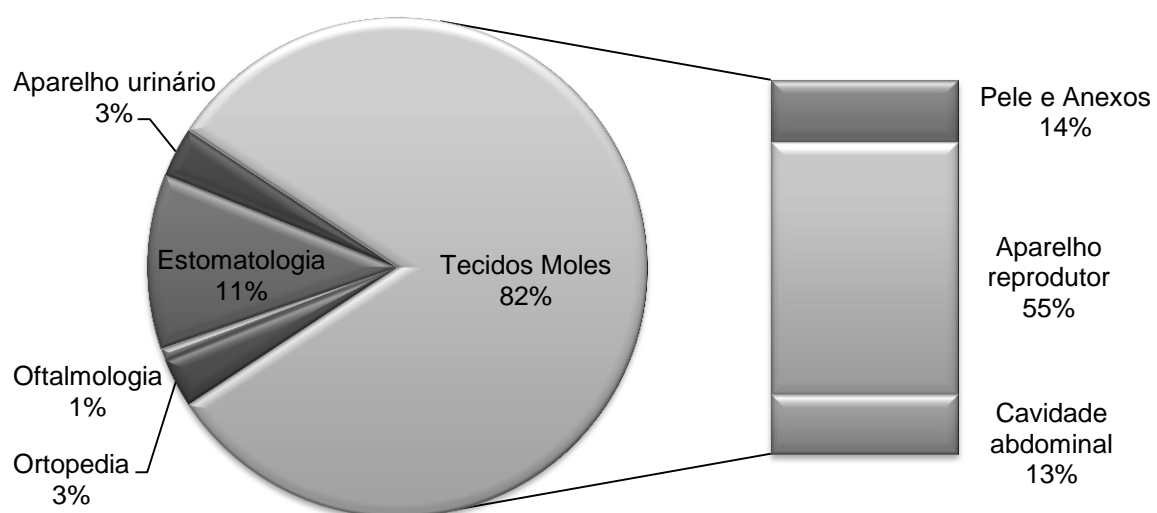


Tabela 7. Frequências absolutas (FA) e relativas (FR) de cirurgias assistidas, distribuídas por espécie animal.

Cirurgia	FA	FR (%)	Caninos		Felinos		Exóticos	
			FA	FR (%)	FA	FR (%)	FA	FR (%)
OVH	43	35,9	27	35,0	16	41,0	0	0,0
OVH com piômetra	5	4,2	3	3,9	2	5,1	0	0,0
Orquiectomia	10	8,3	4	5,2	8	20,5	2	25,0
Excisão tumor vaginal	1	0,8	1	1,3	0	0,0	0	0,0
Prolapso vaginal	3	2,5	3	3,9	0	0,0	0	0,0
Mastectomia	5	4,2	2	2,6	3	7,6	0	0,0
Cesariana	2	1,7	2	2,6	0	0,0	0	0,0
Adrenalectomia	1	0,8	0	0,0	1	2,6	0	0,0
Esplenectomia	2	1,7	2	2,6	0	0,0	0	0,0
Nefrectomia	1	0,8	0	0,0	1	2,6	0	0,0
Cistotomia por cálculo	2	1,7	2	2,6	0	0,0	0	0,0
Ureterotomia por cálculo	1	0,8	0	0,0	1	2,6	0	0,0
Prolapso rectal	1	0,8	1	1,3	0	0,0	0	0,0
Gastrotomia por CE	1	0,8	1	1,3	0	0,0	0	0,0
Enterotomia por CE	3	2,5	3	3,9	0	0,0	0	0,0
Enterectomia por CE	1	0,8	1	1,3	0	0,0	0	0,0
Colecistectomia	1	0,8	1	1,3	0	0,0	0	0,0
Desvitalização dente canino	1	0,8	1	1,3	0	0,0	0	0,0
Limar dentes	5	4,2	0	0,0	0	0,0	5	62,5
Destartarização	8	6,8	6	7,8	2	5,1	0	0,0
Laparotomia exploratória	4	3,3	3	3,9	1	2,6	0	0,0
Otohematoma	2	1,7	2	2,6	0	0,0	0	0,0
Ruptura diafragma	2	1,7	0	0,0	2	5,1	0	0,0
Enucleação	1	0,8	0	0,0	1	2,6	0	0,0
Osteotomia dupla anca	1	0,8	1	1,3	0	0,0	0	0,0
Fractura mandíbula	1	0,8	1	1,3	0	0,0	0	0,0
Artrodese	2	1,7	2	2,6	0	0,0	0	0,0
Excisão de mastocitoma	2	1,7	2	2,6	0	0,0	0	0,0
Excisão nódulo cutâneo	4	3,3	4	5,2	0	0,0	0	0,0
Excisão fibrossarcoma SC	1	0,8	0	0,0	1	2,6	0	0,0
Remoção quistos sebáceos	1	0,8	0	0,0	0	0,0	1	12,5
Excisão lipoma	2	1,7	2	2,6	0	0,0	0	0,0
Total	120	100	77	100	39	100	8	100

Legenda: CE - Corpo estranho; OVH - Ovariohisterectomia; SC - Subcutâneo

Gráfico 6. Frequência relativa de cirurgias assistidas em cada especialidade cirúrgica.



ANEXO 5

Tabela 8. Infecções e neoplasias reportadas em gatos com infecção natural por retrovírus. Adaptado de Hardy et al., 1976; Ishida et al., 1989; Mancianti, Giannelli, Bendinelli & Poli, 1992; Hughes et al. 1999; Pennisi, 2002; Schubach et al. 2003; Sellon & Hartmann, 2006; Dunham & Graham, 2008; Hosie et al., 2009; Lutz et al., 2009; Grace, 2011a.

Infecções Sistêmicas	Alterações Genitourinárias
Toxoplasmose	Cistite bacteriana
Aspergilose	Pielonefrite
Criptococose	Insuficiência renal
Hemobartonelose. (<i>M. haemofelis</i>)	Glomerulonefrite
Peritonite Infecciosa Felina	Incontinência
	Clamidiose e candidíase genital
	Alterações reprodutivas
Alterações Gastrointestinais	
Estomatite linfoplasmocitária	
Estomatite necrótica	Alterações Neurológicas
Parasitismo crônico (ex.: coccidiose, giradirose)	Toxoplasmose
Campilobacteriose	Criptococose
Salmonelose	Parésia
Diarreia crônica	Convulsões
	Alterações comportamentais
Alterações Dermatológicas	
Demodecose	Alterações Hematológicas
Sarna notoédrica	Alterações mieloproliferativas
Infecção fúngica	Anemia não regenerativa
Infecção bacteriana (ex.: micobacteriose, nocardiose, actinomicose)	Anemia hemolítica
Poxvirose	Trombocitopénia
	Neutropénia
Alterações Oculares	Linfopénia
Conjuntivite e queratite crônica por FHV-1	
Uveíte	Neoplasias
Corioretinite	Linfoma
	Carcinoma das células escamosas
Alterações Respiratórias	Leucemia
Infecção por FHV-1 ou FCV	Adenocarcinoma mamário
Pneumonia bacteriana	Mastocitoma
Pnotórax	Carcinoma broncoalveolar

ANEXO 6

Tabela 9. Plano de vacinação para FeLV, FCV e FHV-1. Adaptado de Richards et al., 2006; Radford et al., 2009; Thiry et al., 2009.

Agente	Primovacinação				Reforço	
	- Intervalo mínimo entre vacinações: 2 semanas - Intervalo máximo entre vacinações: 4 semanas (se for ultrapassado fazer pelo menos 2 doses com 3-4 semanas de intervalo) - Animal com mais de 16 semanas ou adulto sem se saber estado vacinal: 2 doses com 3-4 semanas intervalo					
	1ª Dose	2ª Dose	3ª Dose	4ª Dose		
FeLV	8-9 semanas ^a	11-13 semanas ^a	-	-	- 12 meses após última dose de primovacinação - Revacinação anual	
FCV	6 semanas ^{a b}	9 - 10 semanas ^{a b}	12-13 semanas. ^{a b}	16 semanas ^b	- 12 meses após última dose de primovacinação - Revacinação anual ^{a c}	- Se intervalo de tempo desde última dose for superior a 3 anos fazer 2 doses com 2-4 semanas de intervalo
	9 semanas ^b	12- 13 semanas ^b				
FHV-1	6 semanas ^a 9 semanas	9 - 10 semanas ^a 12- 13 semanas	12-13 semanas ^a	16 semanas	- 12 meses após última dose de primovacinação - Revacinação anual ^a	

^a Para animal em situação de risco, *i.e.* que vivam em comunidade com outros felinos ou que tenham acesso ao exterior

^b Utilizar sempre a mesma vacina (marca e/ou estirpe) na primovacinação

^c Podem-se utilizar marcas e/ou estirpes vacinais diferentes

ANEXO 7

Tabela 10. Compostos análogos nucleósidos utilizados no tratamento de FHV-1, por ordem decrescente de eficácia. Adaptado de Nasisse, Guy, Davidson, Sussman & De Clercq, 1989; Nasisse et al., 1997; Stiles, 2000; Stiles, 2003; Maggs & Clarke, 2004; Maggs, 2005; Williams, Robinson, Lay & Field, 2005; Van der Meulen, Garre, Croubels & Nauwynck, 2006; Gaskell et al., 2007; Thiry et al., 2009; Hartley, 2010; Maggs, 2010; Gould, 2011; Grace, 2011b; Sila & Davidson, 2011.

Composto	Comentários	CI, Efeitos adversos	Dose recomendada
Trifluridina (Trifluorotimidina)	Excelente eficácia <i>in vitro</i> Sem estudos <i>in vivo</i> controlados	Administração sistémica é tóxica Por vezes irritante	Aplicação tópica: solução 1% cada 2 horas ou 4-6x/dia, 21 dias
Idoxuridina	Excelente eficácia <i>in vitro</i> Sem estudos <i>in vivo</i> controlados	Por vezes irritante Administração sistémica é tóxica	Aplicação tópica: solução oftálmica 0,1% ou pomada 0,5% 1-1 hora ou 4-6x/dia, 21 dias
Ganciclovir *	Excelente eficácia <i>in vitro</i> Sem estudos <i>in vivo</i> controlados		Gel 0,15% cada 4-6h, 21 dias
Cidofovir	Eficácia <i>in vitro</i> demonstrada Estudos <i>in vivo</i> demonstraram que aplicação BID diminui excreção viral e sinais clínicos Em humanos e coelhos induziu estenose do canal lacrimal		Solução 0,5% BID, 21 dias
Penciclovir	Eficácia <i>in vitro</i> demonstrada Eficácia de pomada 1% comprovada em humanos com queratite, Sem estudos <i>in vivo</i> Gatos com rinosinusite refractária a antibioterapia e dermatite demonstraram melhoria clínica	Monitorização de pacientes renais e hepáticos (metabolizado no fígado e com excreção renal)	15 mg/kg TID, até 90 mg/kg BID/TID, PO, 21 dias Dermatite: 62,5-125 mg/gato TID/BID, PO 3-6 semanas
Vidarabina	Eficácia <i>in vitro</i> demonstrada Sem estudos <i>in vivo</i> controlados	Útil na queratoconjuntivite seca Administração sistémica é tóxica	Aplicação tópica: pomada 3% cada 3 horas ou 4-6x/dia, 21 dias
Aciclovir *	Fraca eficácia demonstrada <i>in vitro</i> Administração frequentemente parece ser benéfica no tratamento da conjuntivite e queratite	Valaciclovir (percursor): CI por supressão medular e necrose renal e hepática	Aplicação tópica: pomada 3% 4-6x/dia, 21 dias ou 200 mg/gato BID, PO

Legenda: BID - Administrar de 12 em 12 horas; CI - Contra-indicado; TID - Administrar de 8 em 8 horas

(*) - Compostos comercializados em Portugal.

ANEXO 8

Tabela 11. Compostos utilizados no tratamento de infecções por *Candida* spp.

Composto	Tipo de Infecção	Via e dose de administração	Resistências / SDD	Efeitos secundários
5-Flucitocina	Trato urinário Sistêmica		<i>C. albicans</i> <i>C. krusei</i> <i>C. tropicalis</i>	
Anfotericina B	Sistêmica	50 mg/kg/dia; Pouca absorção no trato GI, necessidade de administração IV	<i>C. parapsilosis</i>	Nefrotoxicidade cumulativa Anafilaxia
Cetoconazol	Cutânea Sistêmica	10-20 mg/kg/dia, BID, PO, 4-6 semanas; Absorção inibida por antiácidos	<i>C. albicans</i> <i>C. tropicalis</i>	Alterações GI; Inapetência Hepatotoxicidade Alopécia Depressão
Clotrimazol	Cutânea (casos crônicos)	PO (efeito primeira passagem) Pouca biodisponibilidade Aplicação tópica de solução a 1%		
Fluconazol	Trato urinário Ocular Sistêmica	5-10 mg/kg/dia (C) 50 mg/kg/dia (G)	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i> <i>C. krusei</i> <i>C. parapsilosis</i> <i>C. rugosa</i> <i>C. tropicalis</i> <i>C. valida</i>	Alterações GI Nefrotoxicidade
Itraconazol	Sistêmica	5-10 mg/kg/dia, SID/BID, PO, até 4 semanas Absorção inibida por antiácidos	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i> <i>C. guilliermondii</i> <i>C. krusei</i> <i>C. parapsilosis</i> <i>C. rugosa</i> <i>C. tropicalis</i>	Alterações GI Hepatotoxicidade
Miconazol	Cutânea			
Nistatina	Cutânea	Tópico ou PO (20-40 mg/kg/dia, 1-2 semanas)		
Tricomicina	Cutânea	Não absorvido no trato GI		
Voriconazol	Sistêmica		<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i> <i>C. tropicalis</i>	Alterações de metabolismo (C) Hepatotoxicidade Alterações cutâneas Neuropatia periférica Fotofobia, visão nublada Alucinações visuais e auditivas

Legenda: BID - Administrar de 12 em 12 horas; C - Cão; G - Gato; GI - Gastrointestinal; IV - Endovenoso; PO - *per os*, por via oral; SDD - Sensibilidade Dependente da Dose; SID - Administrar de 24 em 24 horas

ANEXO 9

História pregressa

Número		
Nome		
Idade		
Sexo		
Raça		
Esterilização	Sim	
	Não	

Origem	Apanhado na rua	
	Oferecido à AAAAmoita	
	Nasceu na AAAAmoita	
Ambiente (se oferecido)	Exclusivamente casa	
	Exclusivamente rua	
	Misto	
Convívio anterior (se oferecido)	cães	
	gatos	
	exóticos	
	não sabe	
Tempo de convívio diário com o animal	<2h	
	2-6h	
	6-8h	
	>8h	
Desparasitação	Interna	
	Externa	
	Produto	
	Última desparasitação	
Vacinação	Sim	
	Qual?	
	Não	
	Última vacinação	

Depressão	Sim	
	Não	
Actividade	Muito activo	
	Pouco activo	
	Fraqueza	
Dificuldades respiratórias	Sim	
	Não	
Peso	Mantém	
	Perdeu	
	Ganhou	
Doenças diagnosticadas	Quais	
	Há quanto tempo	
Tratamentos actuais		
Alimentação	Húmida	
	Seca	
	Mista	
	Caseira	
Anorexia	Sim	
	Não	
Dificuldades na preensão de alimentos	Sim	
	Não	
Dificuldades na ingestão de água	Sim	
	Não	
Salivação	Sim	
	Não	
Halitose	Sim	
	Não	
Fezes	Normais	
	Pastosas	
	Diarreia	

ANEXO 10

Exame de Estado Geral

Número	
Nome	
Idade	
Sexo	
Raça	

Condição física	Boa	
	Magro	
	Obeso	
Estado do pêlo	Brilhante	
	Baço	
Hidratação	Ok	
	Desidratado	
Arranhões/mordeduras	Sim	
	Não	
Linfonodos	Normais	
	Aumentados	
	Quais?	
Auscultação cardíaca	Normal	
	Taquicardia	
	Arritmia	
	Sopro	
	Abafamento	
Auscultação pulmonar	Normal	
	Taquipneia	
	Fervores	
	Sibilos	
Palpação abdominal	Normal	
	Dolorosa	
Alterações de locomoção	Não	
	Quais?	
Fraqueza muscular	Sim	
	Não	
Temperatura rectal		

TRC	<2seg.	
	>2seg.	
Mucosas	Rosadas	
	Pálidas	
	Cianóticas	
	Ictéricas	
Úlceras orais	Quantas	
	Dimensão	
Gengivite	Sim	
	Não	
Tártaro	Sim	
	Não	
Alterações oculares		
Corrimento ocular	Sim	
	Não	
Corrimento nasal	Sim	
	Não	
Otite	Sim	
	Não	

ANEXO 11

Tabela 12. Classificação da gengivite, por graus. Adaptado de Gorrel (2004).

Grau de gengivite	Descrição clínica
0	Gengiva saudável
1	Gengivite ligeira: bordo gengival ligeiramente vermelho e inchado; sem sangramento
2	Gengivite Moderada: bordo gengival vermelho e inchado; sangra à manipulação
3	Gengivite Grave: bordo gengival muito inchado e vermelho; hemorragia espontânea e/ou ulceração da gengiva